



Departamento de  
Química Orgánica  
Universidad Zaragoza



Facultad de Ciencias  
Universidad Zaragoza

# SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS SUPRAMOLECULARES ANFÍFILOS Y ESTUDIO DE FORMACIÓN DE VESÍCULAS POLIMÉRICAS EN MEDIOS ACUOSOS.

Trabajo Fin de Grado (TFG)

## GRADO EN QUÍMICA

Grupo Cristales Líquidos y Polímeros

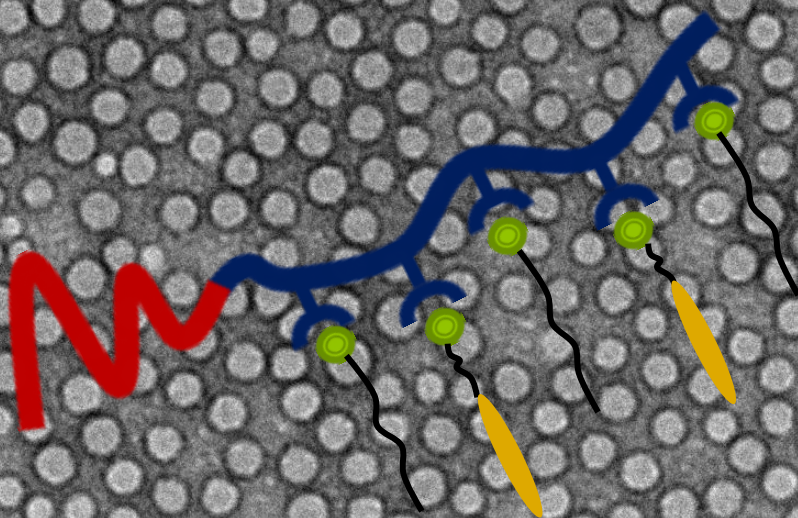
Dpto. Química Orgánica

Universidad de Zaragoza

Curso 2013/2014

*Laura Labarta Pueyo*

*Director: Dr. Luis T. Oriol Langa*



Instituto de Ciencia  
de Materiales de Aragón



CSIC  
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



Universidad  
Zaragoza





Departamento de  
Química Orgánica  
Universidad Zaragoza



Título del Trabajo Fin de Grado en Química: **“SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS SUPRAMOLECULARES ANFÍFILOS Y ESTUDIO DE FORMACIÓN DE VESÍCULAS POLIMÉRICAS EN MEDIOS ACUOSOS”**

Estudiante: LAURA LABARTA PUEYO

Departamento que realizó la propuesta: Departamento de Química Orgánica

D. Luis T. Oriol Langa, Profesor Titular del Departamento de Química Orgánica y DIRECTOR del TFG realizado por Dña. Laura Labarta Pueyo,

HACE CONSTAR

Que este trabajo ha sido realizado en laboratorios del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Zaragoza y del Instituto de Ciencia de Materiales de Aragón (Universidad de Zaragoza-CSIC) y que cumple las condiciones exigidas para su presentación como Trabajo Fin de Grado en Química.

En Zaragoza a 23 de junio de 2014

Fdo. Luis T. Oriol Langa



Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MAT2011-27978-C02-01 y el Gobierno de Aragón (Grupo Cristales Líquidos y Polímeros- E04). Se agradece especialmente la colaboración del Servicio General de Apoyo a la Investigación-SAI, Universidad de Zaragoza, los diferentes servicios utilizados del CEQMA (Universidad de Zaragoza-CSIC).

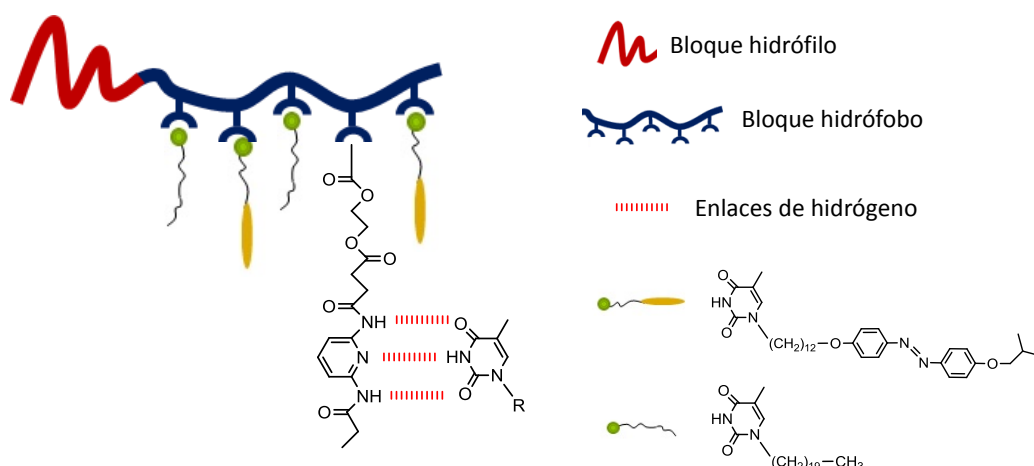




## RESUMEN: “SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS SUPRAMOLECULARES ANFÍFILOS Y ESTUDIO DE FORMACIÓN DE VESÍCULAS POLIMÉRICAS EN MEDIOS ACUOSOS”.

El azobenceno es uno de los compuestos orgánicos más estudiados en la preparación de materiales que responden a la luz debido a su fotoisomerización reversible *trans-cis-trans*. Numerosos homo y copolímeros con azobenceno en la cadena lateral han sido aplicados al almacenamiento holográfico de información, la preparación de actuadores fotomecánicos o, más recientemente, preparación de nanopartículas poliméricas fotoestimulables a partir de copolímeros bloque. La mayoría de los polímeros descritos tienen estructura covalente. Partiendo de estos resultados se planteó obtener copolímeros bloque utilizando principios de la Química Supramolecular. Los objetivos de este trabajo han sido:

- Síntesis y caracterización de copolímeros bloque supramoleculares anfífilos que contiene unidades de 2,6-diacilaminopiridina capaces de unirse vía enlaces de hidrógeno con azocompuestos y cadenas hidrocarbonadas que poseen grupos timina terminales.



**Fig. 1 Copolímeros bloque supramoleculares estudiados.**

- Autoensamblaje en agua de los copolímeros bloque supramoleculares anfífilos.

De acuerdo a estos objetivos, se ha preparado un monómero metacrílico que contiene unidades de 2,6-diacilaminopiridina. Este monómero fue polimerizado de forma controlada, vía RAFT, utilizando un agente de transferencia de cadena que contiene un bloque de poli(etilenglicol), para obtener un copolímero bloque anfílico. Por otra parte se prepararon dos derivados de timina (Figura 1) que pueden enlazarse a través de un triple enlace de hidrógeno a las unidades de 2,6-diacilaminopiridina para dar copolímeros supramoleculares con una composición variable de los grupos laterales. Todos los intermedios, precursores y copolímeros fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas y estudiadas sus propiedades térmicas.

Una vez obtenidos los copolímeros supramoleculares, se procedió al estudio de su agregación en agua. Se optimizó el método de preparación y se han obtenido nanopartículas poliméricas homogéneas de 40 nm que pueden ser empleadas como nanotransportadores, con respuesta a la luz, para el encapsulado y liberación controlada de moléculas hidrófobas.

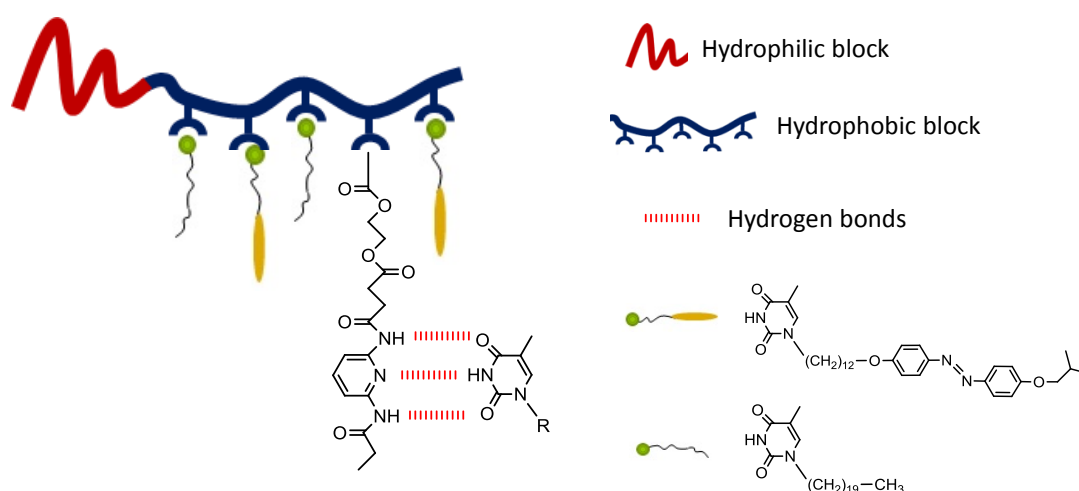




## ABSTRACT: "SUPRAMOLECULAR AMPHIPHILIC COPOLYMERS SYNTHESIS AND STUDY OF POLYMER VESICLES FORMATION IN AQUEOUS MEDIA".

Azobenzene is one of the most studied organic compounds in the preparation of photoresponsive materials due to its reversible photoisomerization *trans-cis-trans*. Manyfold homo and copolymers with azobenzene in the side chain have been applied to holographic optical storage, the preparation of photomechanical actuators or, more recently, the preparation of photoresponsive polymeric nanoparticles from block copolymers. Most of the polymers described have a covalent structure. Taking into account these results, it was proposed to obtain block copolymers using the principles of Supramolecular Chemistry. The aims of this work were:

- The synthesis and characterization of amphiphilic supramolecular block copolymers containing units of 2,6-diacylaminopyridine capable of binding, via hydrogen bonds, azobenzene and hydrocarbonated compounds having thymine terminal groups.



**Fig.1 Supramolecular block copolymers studied.**

- Self-assembly of amphiphilic supramolecular block copolymers in aqueous solutions.

According to these objectives, a methacrylic monomer containing 2,6-diacylaminopyridine units was synthesized. This monomer was polymerized by controlled RAFT polymerization, and using a chain transfer agent containing a poly(ethyleneglycol) block, in order to obtain an amphiphilic block copolymer. Moreover, two thymine derivatives were synthesized, (Figure 1) which can be linked through a triple hydrogen bond to the 2,6- diacylaminopyridine units to give supramolecular copolymers having a variable composition of the side groups. All intermediates, precursors and copolymers were characterized by spectroscopic techniques and their thermal properties were also studied.

Once obtained the supramolecular copolymers, self-assembly in aqueous solution was studied. The preparation method was optimized and uniform polymeric nanoparticles with 40 nm diameter were obtained. These nanoparticles can be employed as nanocarriers, having response to light, for the encapsulation and controlled release of hydrophobic molecules.



## ÍNDICE

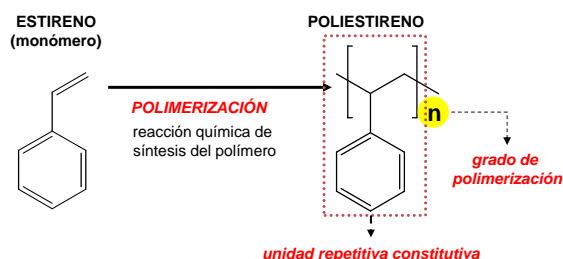
	Pág.
<b>1. <u>INTRODUCCIÓN</u></b>	<b>1</b>
1.1. Clasificación de polímeros	1
1.2. Polímeros supramoleculares	2
1.3. Azobencenos y sus aplicaciones en el campo de polímeros	3
1.3.1. <i>Propiedades del azobenceno</i>	3
1.3.2. <i>Tipos de polímeros con azobenceno</i>	4
1.3.3. <i>Aplicaciones</i>	5
1.3.3.1. <i>Autoensamblados poliméricos</i>	5
1.4. Polímeros supramoleculares con azobenceno	7
<b>2. <u>OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO</u></b>	<b>8</b>
2.1. Síntesis y caracterización del monómero con la unidad de 2,6-diacilaminopiridina (DAP) y derivados de timina (tAZO-i y tC20)	8
2.2. Preparación y caracterización del copolímero bloque y de los copolímeros bloque supramoleculares	9
2.3. Preparación y caracterización de micelas o vesículas poliméricas	9
<b>3. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u></b>	<b>10</b>
3.1. Síntesis y caracterización del monómero DAP y derivados de timina	10
3.2. Preparación del copolímero bloque (PEG-b-PDAP)	12
3.3. Preparación de los copolímeros supramoleculares	15
3.4. Autoensamblados en agua	17
<b>4. <u>PARTE EXPERIMENTAL</u></b>	<b>20</b>
4.1. Síntesis y caracterización del monómero con la unidad de 6-diacilaminopiridina (DAP)	20
4.2. Síntesis y caracterización de los derivados de timina tAZO-i y tC20	20
4.3. Síntesis y caracterización del copolímero de PEG-b-PDAP (PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP)	23
4.4. Preparación de los copolímeros supramoleculares	23
4.5. Autoensamblados en agua	24
<b>5. <u>CONCLUSIONES</u></b>	<b>25</b>
<b><u>ANEXOS</u></b>	
1. Espectros (FTIR, <sup>1</sup> H-RMN, <sup>13</sup> C-RMN)	A-1
2. Estudio enlaces de Hidrógeno (FTIR)	A-18
3. Termogravimetría (TGA, DTGA)	A-21
4. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	A-31
5. MALDI-MS	A-36
6. Técnicas e instrumentos	A-38



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Clasificación de polímeros.

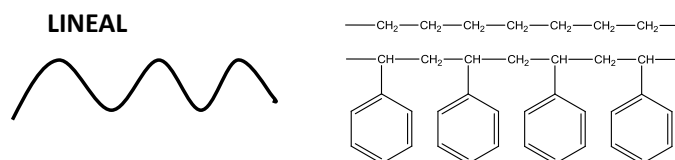
Los polímeros son macromoléculas, generalmente orgánicas, con simplicidad estructural cuya estructura química está formada por unidades menores que se repiten (unidades repetitivas constitutivas) y que derivan del reactivo o monómero empleado en su síntesis (denominada reacción de polimerización) como se muestra en la *Figura 1.1*.



**Fig 1.1.** Ejemplo de un monómero y su polímero correspondiente.

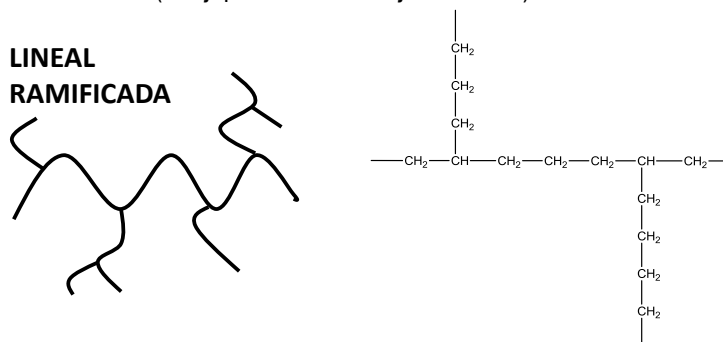
Los polímeros pueden clasificarse según su naturaleza o según su estructura. Según su naturaleza se pueden diferenciar como polímeros **naturales** (biomacromoléculas presentes en los seres vivos como proteínas, polisacáridos, politerpenos, etc.), **semisintéticos** (obtenidos por modificación química de polímeros naturales como los derivados de celulosa) o **sintéticos**. Según su estructura se pueden clasificar, de forma básica, en:

**Polímeros lineales.** Las unidades monoméricas se unen unas a otras formando cadenas sencillas unidimensionales. Estas largas cadenas suelen ser flexibles y pueden unirse entre sí por fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, etc. (P. ej. polietileno o poliestireno).



**Fig 1.2.** Estructura de polímeros de tipo lineal.

**Polímeros lineales ramificados.** En estos polímeros la cadena principal está conectada lateralmente con otras cadenas secundarias. (P. ej. polietileno de baja densidad).



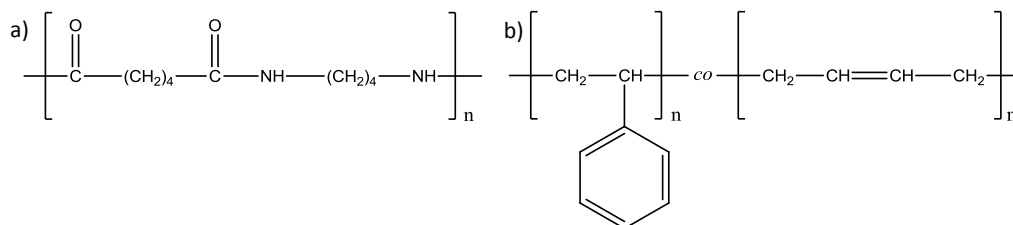
**Fig 1.3.** Estructura de un polímero lineal ramificado.

- **Polímeros entrecruzados.** En este tipo las cadenas lineales adyacentes se unen transversalmente mediante enlaces covalentes. Se pueden clasificar a su vez, según su alta o baja densidad de entrecruzamiento (P. ej. resinas epoxi o el caucho vulcanizado).



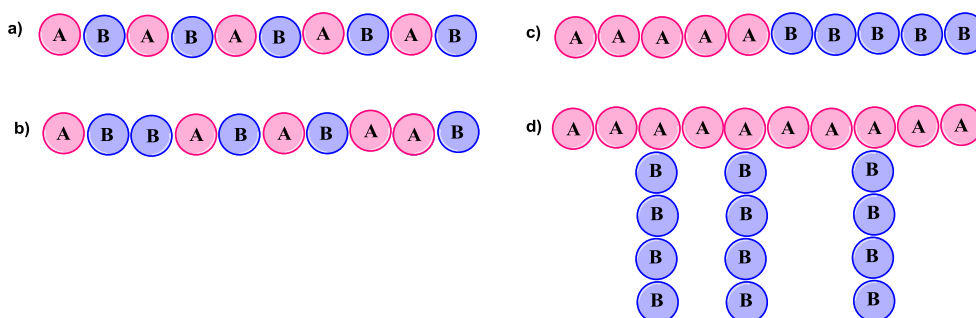
**Fig 1.4.** Estructura genérica de polímeros entrecruzados.

No obstante, en los últimos años se han sumado nuevas estructuras como los polímeros hiperramificados y dendrímeros. Por último, en este breve repaso, cabe diferenciar entre **HOMO-** y **COPOLÍMEROS**. Generalmente se considera homopolímero al polímero cuya cadena está constituida por un único tipo de unidad repetitiva, y copolímero a aquel cuya cadena está constituida por dos o más tipos de unidades repetitivas.



**Fig 1.5.** Estructura de a) un homopolímero (nylon 6,6) y b) un copolímero (copolímero estireno-butadieno).

Hay diferentes tipos de copolímeros según cómo están distribuidas las unidades repetitivas en la cadena (*Figura 1.6*): copolímeros estadísticos, alternantes, bloque, etc. Por sus aplicaciones en nanotecnología uno de los tipos más estudiados recientemente son los copolímeros bloque (*Figura 1.6c*) que consisten en la unión de dos (o más) bloques de polímeros diferentes en la misma cadena.

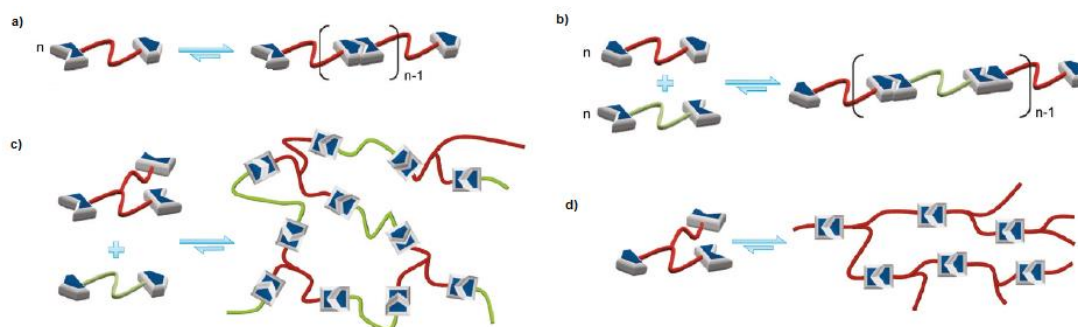


**Fig 1.6.** Esquema de diferentes tipos de copolímeros: a) alternante, b) estadístico, c) en bloque y d) de injerto.

## 1.2. Polímeros supramoleculares.

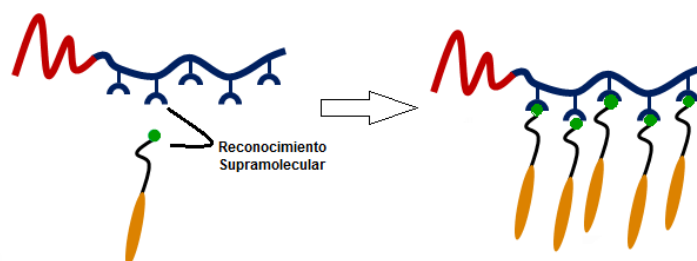
La **Química Supramolecular** tiene como objetivo la preparación de sistemas moleculares definidos (tanto en estructura como en propiedades) utilizando enlaces no covalentes. La mayoría de los polímeros existentes son covalentes; sin embargo se pueden aplicar los principios de la Química Supramolecular a la preparación de macromoléculas: los denominados polímeros supramoleculares. Estos polímeros pueden existir como un equilibrio entre especies de alto y bajo peso molecular. Además, el establecimiento de un equilibrio durante el

proceso de ensamblaje proporciona al sistema capacidad para corregir uniones erróneas. Por tanto, se pueden definir los polímeros supramoleculares como sistemas poliméricos que se extienden más allá de la molécula y que utilizan las interacciones no covalentes para su formación y/o comportamiento.<sup>1</sup> Como se puede apreciar en la *Figura 1.7*, existe una gran variedad de maneras de acceder a diferentes tipos de polímeros, donde en este caso las uniones de los componentes del polímero se establecen gracias a la presencia de grupos complementarios que permiten un reconocimiento molecular para formar la estructura final:



**Fig 1.7.** Diferentes polímeros supramoleculares: a) y b) homopolímeros lineales c) red polimérica y d) polímero supramolecular hiperramificado. (Adaptado ref.1)

Otra posibilidad diferente a las mostradas en la *Figura 1.7* es tener un polímero covalente capaz de reconocer por enlaces no covalentes a otro tipo de moléculas. En este caso se obtienen **polímeros supramoleculares de cadena lateral** con propiedades nuevas y diferentes a los materiales de partida.



**Fig 1.8.** Formación de un copolímero bloque supramolecular de cadena lateral a partir de un copolímero covalente.

En la mayoría de los casos, el reconocimiento supramolecular se da vía enlaces de hidrógeno (como ocurre en muchos sistemas biológicos), si bien también existen otras posibilidades como la coordinación con metales o la interacción electrostática.

### 1.3. Azobencenos y sus aplicaciones en el campo de polímeros.

El azobenceno es un compuesto químico formado por dos anillos de fenilo unidos a través de un doble enlace  $N=N$ . A menudo, el término “azobenceno” se utiliza para referirse a diferentes moléculas que tienen azobenceno como núcleo central y diferentes grupos funcionales químicos que se extienden desde los anillos fenilo.

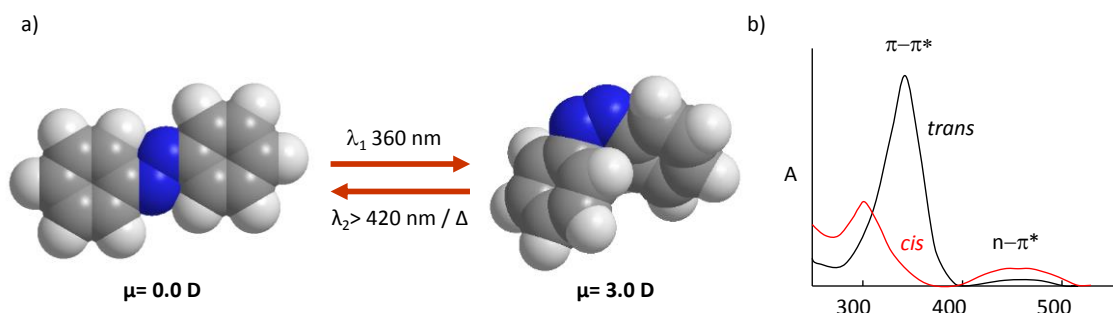
#### 1.3.1. Propiedades del azobenceno.

Una de las propiedades más interesantes del azobenceno es la fotoisomerización reversible entre los isómeros *cis* y *trans*. El más estable es el isómero *trans* pero con luz isomeriza a la configuración *cis* lo que provoca un

<sup>1</sup> J. D. Fox, S. J. Rowan, *Macromolecules* **2009**, 42, 6823-6835.

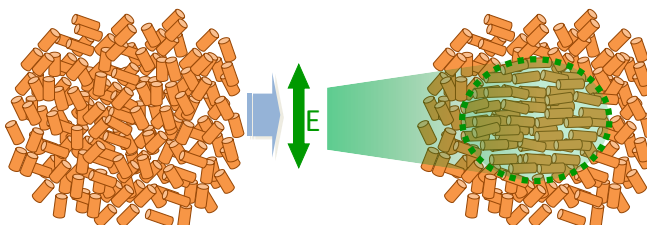


cambio en la forma geométrica de la molécula y en su polaridad. El retorno al isómero *trans* puede inducirse también por luz o por temperatura (Figura 1.9). Ambos isómeros tienen diferente espectro de absorción de ahí su carácter fotocromático. La longitud de onda a la cual isomeriza depende de la estructura del azobenceno. Normalmente presentan una absorción poco intensa  $n-\pi^*$  en el visible, y otra mucho más intensa  $\pi-\pi^*$  en la región UV.<sup>2,3</sup>



**Fig 1.9.** a) Isomerización del azobenceno. b) Espectro UV típico de los dos isómeros de azobencenos.

La foto-isomerización permite la reorientación molecular si se irradia con luz linealmente polarizada. La probabilidad de isomerización es proporcional a  $\cos^2\alpha$ , siendo  $\alpha$  el ángulo entre el vector de polarización de la luz y el momento de transición que es paralelo al eje largo de la molécula de azobenceno. Por lo tanto, solo los azobencenos con un componente paralelo a la dirección de polarización de la luz serán excitados. Las moléculas orientadas en el plano perpendicular tendrán probabilidad nula de isomerizar. Tras diversos ciclos de isomerización *trans-cis-trans* (la vuelta a *trans* no tiene por qué ser en la misma orientación) las unidades de azobenceno se orientarán preferentemente en ese plano perpendicular ya que no pueden seguir isomerizando. Como consecuencia se induce orientación y anisotropía en la zona irradiada (Figura 1.10).<sup>2,4</sup> Esta es la base de la gran mayoría de aplicaciones descritas para los azobencenos como materiales.



**Fig 1.10.** Distribución inicial aleatoria de un compuesto con unidades de azobenceno y generación de anisotropía fotoinducida tras sucesivas isomerizaciones *trans-cis-trans*. (E: campo eléctrico luz polariza lineal)

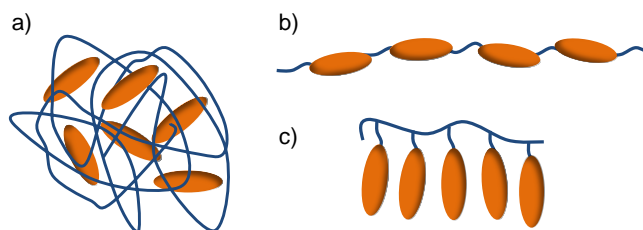
### 1.3.2. Tipos de polímeros con azobenceno.

Existe una amplia variedad de polímeros que contienen azobenceno y su diseño molecular depende de la incorporación del cromóforo en la estructura polimérica. De acuerdo a la Figura 1.11, el azobenceno se puede encontrar: (a) disperso físicamente en una matriz polimérica, (b) formando parte de la estructura de la cadena principal, o bien (c) unidos como grupos de la cadena lateral.

<sup>2</sup> E. Blasco, *Tesis Doctoral*, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, Julio 2013

<sup>3</sup> M. Ribagorda, E. Merino, *An. Quím.* **2009**, 105, 290–299

<sup>4</sup> S. Hvilsted, C. Sánchez, R. Alcalá, *J. Mater. Chem.* **2009**, 19, 6641–6648



**Fig 1.11.** Incorporación del azobenceno a materiales poliméricos: a) sistema huésped-anfitrión, (b) formando parte de la cadena principal, (c) como parte de la cadena lateral. (Ref. 5)

Además, también es interesante encontrar un equilibrio entre la inclusión de estos azobencenos (para que cumplan su función) con la presencia de la mínima cantidad de compuesto azoico. Esto es así porque en aplicaciones tales como la holografía de volumen se requieren películas de gran espesor y por lo tanto no pueden tener una elevada composición de azobenceno (debido a su elevada absorción). Para disminuir la cantidad de compuesto azoico se puede polimerizar en presencia de otros monómeros o preparar copolímeros bloque que combinen un bloque con azobenceno con otro bloque sin estos grupos.<sup>5</sup>

### 1.3.3. Aplicaciones.

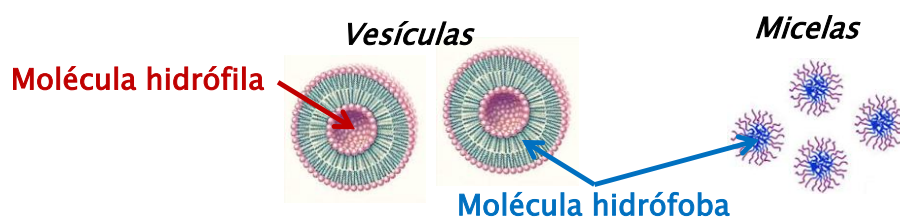
Son muy diversas las aplicaciones descritas para los azopolímeros. Entre ellas cabe destacar el almacenamiento óptico de información, que ha permitido desarrollar materiales para aplicación en holografía de volumen<sup>4</sup> o su función como actuadores fotomecánicos, es decir, el empleo de películas o dispositivos de azobenceno que debido a la fotoisomerización (y cambio geométrico y orientacional asociado) son capaces de moverse de manera selectiva al ser irradiados.<sup>6</sup> En el departamento de Química Orgánica de la Universidad de Zaragoza se han preparado diferentes polímeros para holografía de volumen, principalmente basados en copolímeros bloque. Sin embargo cuando estos copolímeros bloque son anfífilos (compuestos de una parte hidrófila y otra hidrófoba) surgen nuevas posibilidades que han sido tema de investigación en este departamento en los últimos años.

#### 1.3.3.1. Autoensamblados poliméricos.

La isomerización fotoinducida de los azobencenos puede utilizarse para provocar cambios en autoensamblados macromoleculares dispersados en un medio líquido. Cuando se introduce en agua un copolímero bloque anfílico sus partes hidrófobas tienden a interactuar entre sí para minimizar el contacto con el agua, desfavorecido desde el punto de vista entálpico, mientras que las hidrófilas quedan solvatadas por moléculas de agua. Este autoensamblado se traduce en diversos tipos de micelas o vesículas. Las micelas poliméricas consisten en un núcleo formado por la parte hidrófoba y una corona formada por la parte hidrófila. Si se consigue encapsular en el núcleo moléculas hidrófobas (p. ej. medicamentos), las micelas pueden usarse como transportadoras de sustancias con concentraciones que pueden superar su valor de solubilidad en agua. Por otra parte, las vesículas poliméricas contienen un volumen interno encapsulado por una membrana con estructura bicapa. Las vesículas tienen particular interés por su interior hidrófilo y su robusta membrana hidrófoba lo que le permite encapsular tanto moléculas hidrófobas (dentro de la membrana) como hidrófilas (en el interior), tal y como se muestra esquemáticamente en la Figura 1.12.

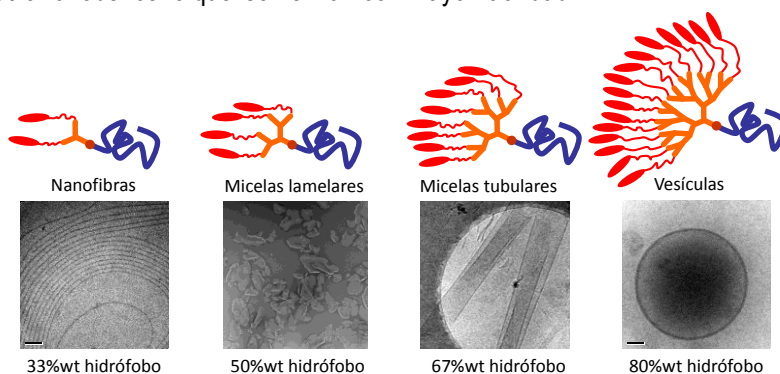
<sup>5</sup> E. Blasco, M. Piñol, C. Berges, C. Sánchez-Somolinos, L. Oriol "Smart Polymers for Optical Data Storage" en *Smart Polymers* (Ed. M.R. Aguilar, J. San Román), **2014** Woodhead Pubs., Cap. 16, 510-548

<sup>6</sup> T. Ikeda, T. Ube, *Materials Today* **2011**, *14*, 480-487



**Fig 1.12.** Ensamblados en forma de micelas y vesículas a partir de moléculas anfífilas y disposición de moléculas encapsuladas.

El tamaño y la forma de estos autoensamblados pueden ser modulados controlando la relación hidrófobo/hidrófilo del copolímero bloque. Por ejemplo, en el Dpto. de Química Orgánica de UNIZAR se han preparado copolímeros bloque dendrítico-lineal que pueden formar nanofibras, micelas y vesículas, según la composición (*Figura 1.13*).<sup>7</sup> Inicialmente se sintetizaron copolímeros bloque anfífilos dendrítico-lineales derivados del polietilenglicol (PEG) con dendrones que tienen unidades de 4-cianoazobenceno unidas a la periferia, lo que *a priori* les confiere respuesta a la luz. Se conoce como dendrón a un polímero con ramificaciones regulares y que ramifica a partir de un origen monofuncional. Si bien las vesículas formadas por ellos respondían a la luz (se deformaba su membrana), las interacciones polares entre grupos ciano suponen un impedimento para la fotoisomerización y es necesario irradiar con luz intensa. Por ello se sustituyó el 4-cianoazobenceno por unidades de 4-isobutíloxiazobenceno que isomerizan con mayor facilidad.<sup>8,9</sup>



**Fig 1.13.** Autoensamblados formados por polímeros bloque anfífilos con diferente relación hidrófilo/hidrófobo (los azobencenos se representan como elipses y se unen a la periferia del dendrón).

Posteriormente se observó que si la sustitución del dendrón se hacía con diferentes proporciones de la unidad azobenceno y una cadena hidrocarbonada (*Figura 1.14a*), se podían controlar mejor las modificaciones que sufrían las vesículas al ser irradiadas con luz. En la figura 1.14b puede observarse las vesículas formadas antes y después de la irradiación con UV según la proporción cromóforos azo/cadenas alifáticas. La velocidad de liberación y modificación de vesículas varía según la composición y el mejor resultado se obtiene con la composición 50:50.<sup>10</sup> Utilizando moléculas fluorescentes se comprobó que estas vesículas encapsulaban y liberaban estas sondas con luz como estímulo, lo que abre la posibilidad de utilizarlas para encapsular otras moléculas de interés, como fármacos, que puedan ser liberadas a demanda con luz como estímulo.<sup>11</sup> Todos los copolímeros mencionados para este tipo de aplicaciones tienen estructura covalente.

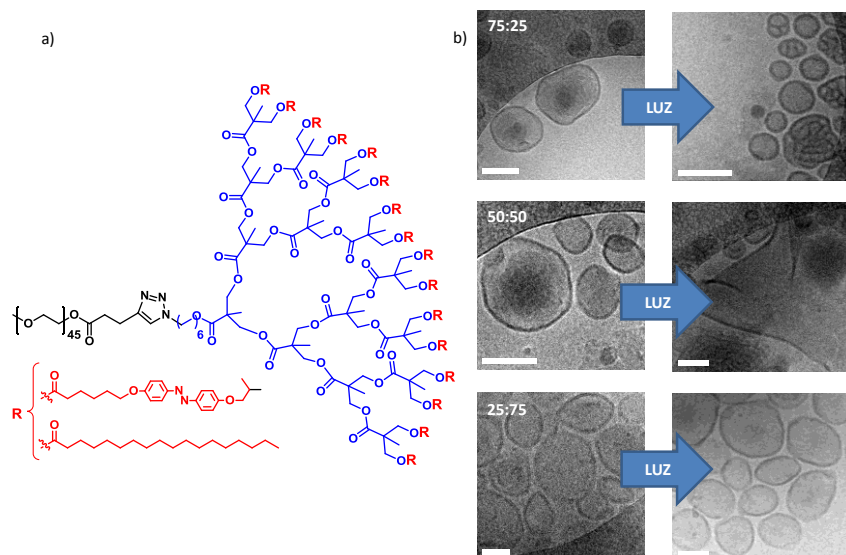
<sup>7</sup> J. del Barrio, L. Oriol, C. Sanchez, J. L. Serrano, A. Di Cicco, P. Keller, M. H. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3762-3769

<sup>8</sup> J. del Barrio, *Tesis Doctoral*, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, Marzo **2010**.

<sup>9</sup> E. Blasco, B.V.K.J. Schmidt, C. Barner-Kowollik, M. Piñol, L. Oriol, *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 4506-4514

<sup>10</sup> E. Blasco, J. L. Serrano, M. Piñol, L. Oriol, *Macromolecules* **2013**, *46*, 5951-5960

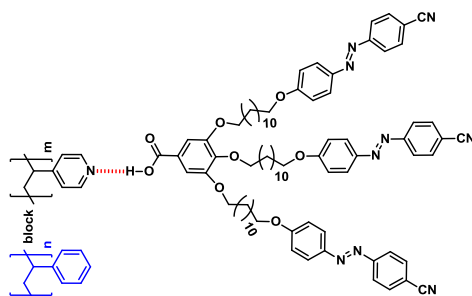
<sup>11</sup> E. Blasco, J. del Barrio, C. Sánchez-Somolinos, M. Piñol, L. Oriol, *Polym. Chem.*, **2013**, *4*, 2246-2254



**Fig 1.14.** a) Copolímero bloque anfífilo dendrítico-lineal con diferente composición de azobenceno y cadena alifática. b) Cryo-TEM de vesículas antes (izquierda) y después (derecha) de irradiar con UV., según composición.

#### 1.4. Polímeros supramoleculares con azobenceno.

La Química Supramolecular aplicada a los azopolímeros permite combinar de una manera sencilla el procesado de los polímeros con el fotocromismo y los movimientos fotoinducidos propios de los azobencenos. En la Universidad de Zaragoza también se han estudiado copolímeros supramoleculares preparados a partir de copolímeros bloque comerciales de poliestireno-b-poli(4-vinilpiridina) y azobencenos con grupos carboxílicos.<sup>12,13</sup>



**Fig 1.15.** Ejemplo de copolímero bloque supramolecular con azobencenos sintetizado en UNIZAR (ref. 13).

Sin embargo, dada la fortaleza del enlace de H las mezclas no eran completamente homogéneas. Para evitar la segregación de los componentes se sustituyeron las polivinilpiridinas por polímeros con unidades de 2,6-diacilaminopiridinas y se sintetizó un derivado de azobenceno con timina. Así, se forma un triple enlace de H entre 2,6-diacilaminopiridina y timina, lo que evita la segregación macroscópica.<sup>14</sup> Se prepararon copolímeros bloque de PEG con polímeros con unidades de 2,6-diacilaminopiridina que fueron funcionalizadas con timina-azobenceno. Estos son los antecedentes directos de este TFG, en el que se estudiarán copolímeros bloque supramoleculares con unidades de 2,6-diacilaminopiridina. A diferencia de lo anterior, en este TFG se busca una modificación de las mismas con dos grupos diferentes: uno con azobenceno (tAZO-i) y otro con una cadena hidrocarbonada (tC<sub>20</sub>) para modular propiedades, como ya se había comprobado en los compuestos covalentes.

<sup>12</sup> J. del Barrio, E. Blasco, L. Oriol, R. Alcalá, C. Sánchez, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.* **2013**, 51, 1716-1725

<sup>13</sup> J. del Barrio, E. Blasco, C. Toprakcioglu, A. Koutsoubas, O. A. Scherman, L. Oriol, C. Sánchez-Somolinos, *Macromolecules* **2014**, 47, 897-906

<sup>14</sup> A. Concellón, *Trabajo Fin de Máster*, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, Junio **2013**

## 2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO

De acuerdo a los antecedentes previos, el objetivo de este trabajo es la preparación de copolímeros bloque supramoleculares anfífilos y de sus precursores correspondientes, basados en unidades repetitivas que contienen anillos de 2,6-diacilaminopiridina, así como de compuestos derivados de timina con y sin unidades de azobenceno. Ambos, copolímeros y derivados de timina, son capaces de formar enlaces de H múltiples para dar lugar a los copolímeros bloque supramoleculares.

Además se formarán autoensamblados poliméricos (micelas o vesículas) que pueden ser utilizados en el transporte y liberación controlada de moléculas orgánicas debido a su capacidad de responder a la luz.

De acuerdo a esto, el planteamiento y las tareas específicas programadas para este TFG han sido las siguientes:

### 2.1. Síntesis y caracterización del monómero con la unidad de 2,6-diacilaminopiridina (DAP) y derivados de timina (tAZO-i y tC<sub>20</sub>).

- Monómero (DAP)

El monómero precursor debe de cumplir dos requisitos: *el primero*, formar a partir de un bloque de poli(etilenglicol) (PEG) el copolímero bloque anfílico de forma sencilla; y *el segundo*, tener la capacidad de unirse por enlaces de H a los derivados de timina que formarán la cadena lateral. Para ello se seleccionó el monómero codificado como DAP con la siguiente estructura:

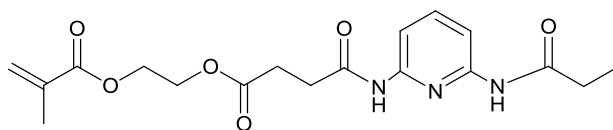


Fig 2.1. Monómero con la unidad de 2,6-diacilaminopiridina (DAP).

- Derivados de timina (tAZO-i y tC<sub>20</sub>)

La timina es capaz de formar tres enlaces de H con la unidad de 2,6-diacilaminopiridina del monómero. Uno de los compuestos contiene el grupo cromóforo 4-isobutíloxiazobenceno (tAZO) y el otro una cadena hidrocarbonada de 20 átomos de C (tC<sub>20</sub>).

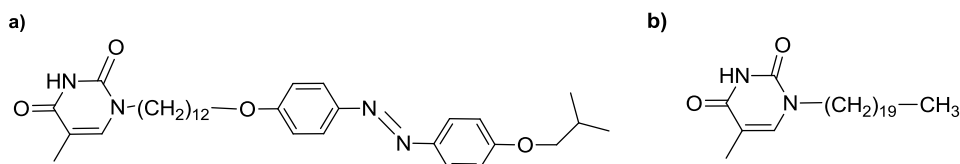
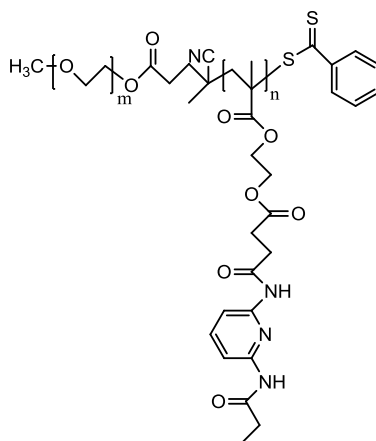


Fig 2.2. Derivados de timina: a) tAZO-i y b) tC<sub>20</sub>.

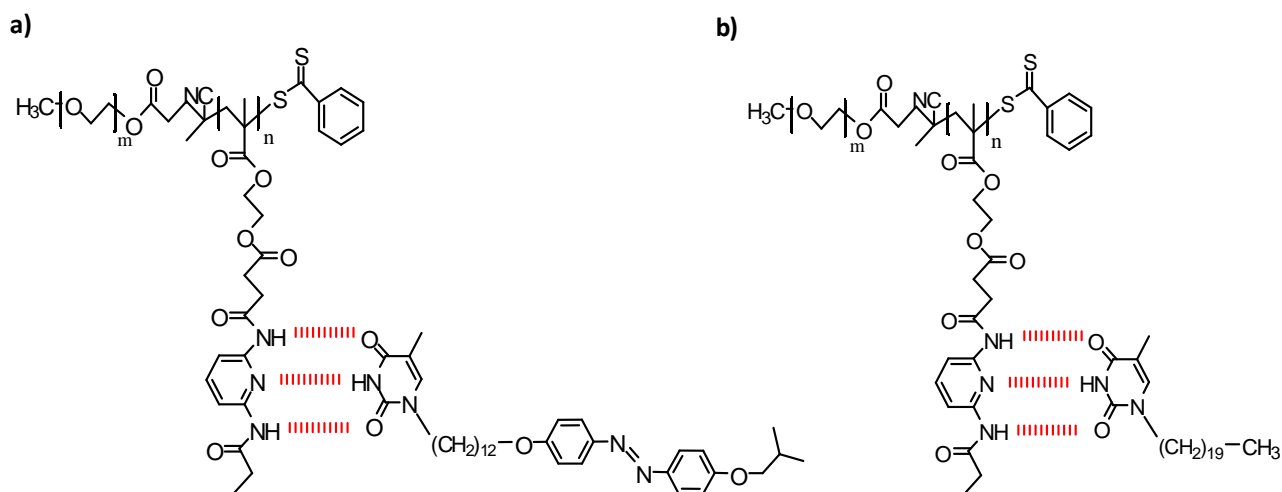
## 2.2. Preparación y caracterización del copolímero bloque y de los copolímeros bloque supramoleculares.

El copolímero bloque objetivo (PEG-b-PDAP) es un copolímero anfífilo formado por el monómero sintetizado DAP y PEG como parte hidrófila (se seleccionó un PEG comercial de masa aprox. 2000: PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP). Su estructura es consecuencia del método de preparación utilizado: la polimerización controlada RAFT.



**Fig 2.3.** Estructura polimérica del PEG-b-PDAP.

Este polímero se unirá a los derivados de timina presentados anteriormente (con diferentes porcentajes de cada uno de ellos) mediante enlaces de H para formar polímeros supramoleculares de cadena lateral.



**Fig 2.4.** Interacciones supramoleculares entre una unidad repetitiva de PDAP del copolímero bloque con a) tAZO-i y b) tC<sub>20</sub>.

## 2.3. Preparación y caracterización de micelas o vesículas poliméricas.

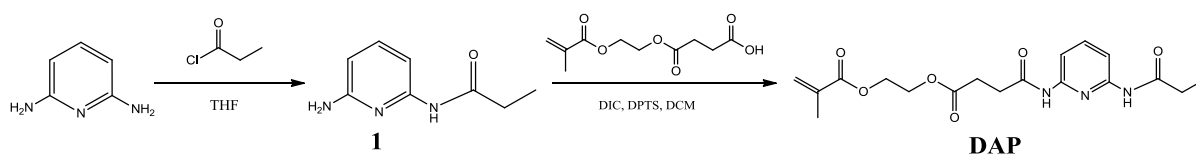
La última parte del TFG consiste en comprobar si es posible preparar micelas o vesículas poliméricas resultantes del autoensamblado de estos copolímeros en medio acuoso, así como del estudio de su posible morfología mediante microscopía electrónica.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Síntesis y caracterización del monómero DAP y derivados de timina.

- **Preparación y estudio del monómero metacrílico (DAP).**

El monómero necesario para preparar copolímeros supramoleculares se obtuvo de acuerdo a la siguiente ruta sintética:



**Fig. 3.1** Esquema de la ruta sintética del monómero con unidad de 2,6-diacilaminopiridina (DAP).

La reacción de *N*-acilación para obtener 2-propanoilamino-6-aminopiridina se realizó de acuerdo a un procedimiento previamente descrito<sup>14,15</sup> y que parte de 2,6-diaminopiridina y cloruro de propionilo (ambos comerciales) con estequiometría 2:1, que permite captar HCl resultante y favorecer la amidación de un solo grupo amino. Obtenida la 2-propanoilamino-6-aminopiridina, se introduce el grupo polimerizable por amidación del amino restante del anillo de piridina con succinato de mono-2-metacrilóiloxietilo, un compuesto comercial y barato. En esta segunda reacción se utiliza DIC (diisopropilcarbodiimida) para activar el grupo carboxílico. Además como subproducto se genera diisopropilurea que es fácilmente eliminable dada su solubilidad en disolventes orgánicos (a diferencia de la urea generada cuando se utiliza dicitohexilcarbodiimida, DCC).

La caracterización del intermedio 2-propanoilamino-6-aminopiridina se llevó a cabo por IR, <sup>13</sup>C-RMN y <sup>1</sup>H-RMN y una vez confirmada su estructura se procedió a la síntesis del monómero DAP. A este monómero se le realizó, además de las caracterizaciones nombradas anteriormente, espectrometría de masas (MALDI) y análisis térmicos (TGA y DSC). Los resultados básicos de caracterización espectroscópica de ambas síntesis pueden observarse en el apartado *espectros A.1* y *A.2* de los anexos.

- **Derivados de timina (tAZO-i y tC<sub>20</sub>).**

El derivado de timina que contiene la unidad fotocrómica de 4-isobutiloxiazobenceno codificado como tAZO-i se sintetizó según la ruta siguiente:

<sup>15</sup> J. Bernstein, B. Stearns, E. Shaw, W.A. Lott, *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, 69, 1151-1158



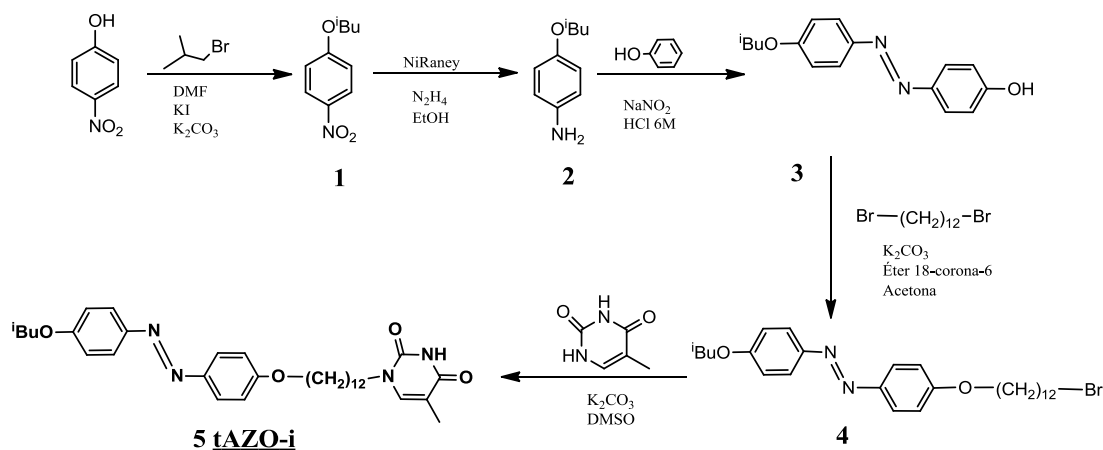


Fig. 3.2 Esquema de la ruta sintética del azoderivado (tAZO-i).

La unidad de azobenceno, se prepara por acoplamiento azoico. Con tal fin, en la primera reacción se parte de *p*-nitrofenol y se hace reaccionar con bromuro de isobutilo (esterificación de Williamson), utilizando DMF como disolvente,  $K_2CO_3$  como base para formar el fenolato correspondiente y KI para favorecer la sustitución. La siguiente reacción consistió en reducir el grupo nitro a amino utilizando hidracina como dador de hidrógeno y Ni-Raney como catalizador. La reacción se siguió por cromatografía de capa fina ya que puede ser que la reacción se detenga tanto por falta de catalizador como de hidracina. Cuando se comprobó que sólo aparecía un único producto de reacción (no se observó reactivo de partida ni compuestos intermedios) se dio por finalizada la reacción. Posteriormente, el compuesto formado se disolvió en medio ácido y se hizo reaccionar con una disolución acuosa de  $NaNO_2$  para dar lugar a la sal de diazonio (la reacción se mantiene a temperatura por debajo de  $5^\circ C$ ). Una vez formada la sal se añadió el fenol disuelto en medio básico para llevar a cabo el acoplamiento azoico. De esta manera se obtuvo el 4-isobutiloxi-4'-hidroxiazobenceno (producto 3). Sobre este se realizó otra reacción de Williamson con 1,12-dibromododecano,  $K_2CO_3$  como base, éter 18-corona-6, y acetona como disolvente para obtener 4-isobutiloxi-4'-(12-bromododeciloxy)azobenceno. El último paso para llegar al producto deseado consistió en una sustitución nucleófila de la timina sobre el bromuro de alquilo utilizando  $K_2CO_3$  como base y DMSO como disolvente.

El otro derivado de timina,  $tC_{20}$ , se preparó de forma análoga al compuesto 5, en este caso a partir de bromuro de 1-bromoeicosano:

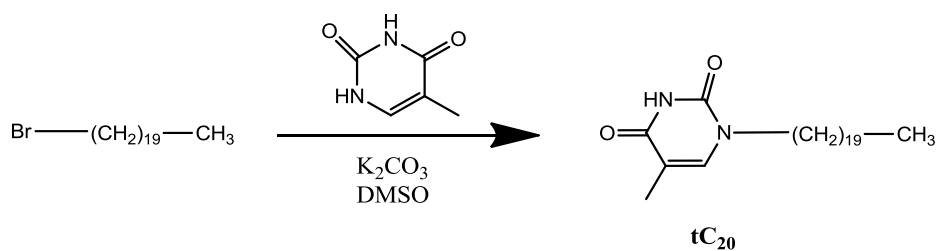


Fig. 3.3 Esquema de la ruta sintética del derivado hidrocarbonado ( $tC_{20}$ ).

Las técnicas por las que se analizaron ambos compuestos fueron: IR,  $^1H$ -RMN,  $^{13}C$ -RMN (también para los intermedios) (Ver apartados Anexos espectros B y C), espectrometría de masas (técnica MALDI) y análisis térmicos (TGA y DSC) (Anexos). Ambos derivados son compuestos cristalinos con temperaturas de fusión (DSC,  $10^\circ C/min$ ,  $2^\circ$  barrido) de  $162^\circ C$  y  $116^\circ C$  para tAZO-i y  $tC_{20}$  respectivamente.

### 3.2. Preparación del copolímero bloque (PEG-b-PDAP).

La preparación de copolímeros bloque supone el uso de métodos de polimerización diferentes a los convencionales. Un monómero metacrílico, como es el caso del monómero DAP, suele ser polimerizado por una reacción en cadena vía radicales libres con sus correspondientes etapas de iniciación, propagación y terminación, como por ejemplo para obtener el poli(metacrilato de metilo) comercial. Sin embargo, con esta metodología no es posible obtener copolímeros bloque con un control preciso de la estructura. Para sintetizar copolímeros bloque se solía recurrir a la polimerización aniónica. No obstante, esta polimerización requiere de condiciones estrictas de reacción (baja temperatura, disolventes de muy alta pureza, atmósfera inerte, etc.) y además solo puede ser aplicada a unos pocos monómeros. El desarrollo a finales del siglo pasado de nuevos métodos de polimerización radicalaria controlada ha incrementado notablemente las macromoléculas que pueden prepararse de forma sencilla con un alto grado de control estructural. La clave de estas metodologías suele residir en impedir (o minimizar lo más posible) la reacción de terminación en el proceso en cadena radicalario, manteniendo una muy baja concentración de radicales, normalmente “enmascarados” en forma de un compuesto con un enlace lábil. Entre estas reacciones destacaremos la polimerización RAFT (por sus siglas en inglés: *Reversible Addition Fragmentation Transfer*). La clave del mecanismo de polimerización RAFT (ver Figura 3.4) es una secuencia de equilibrios de adición-fragmentación como los mostrados en este esquema:

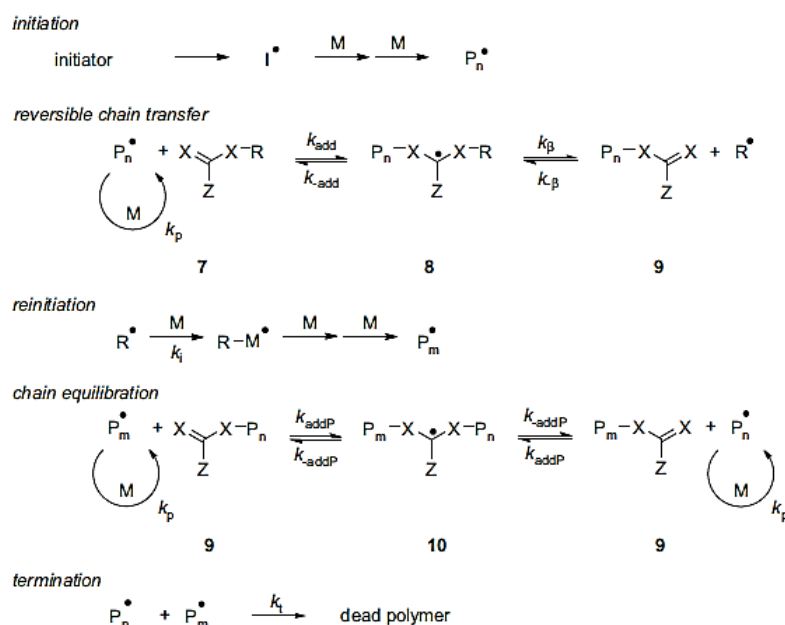
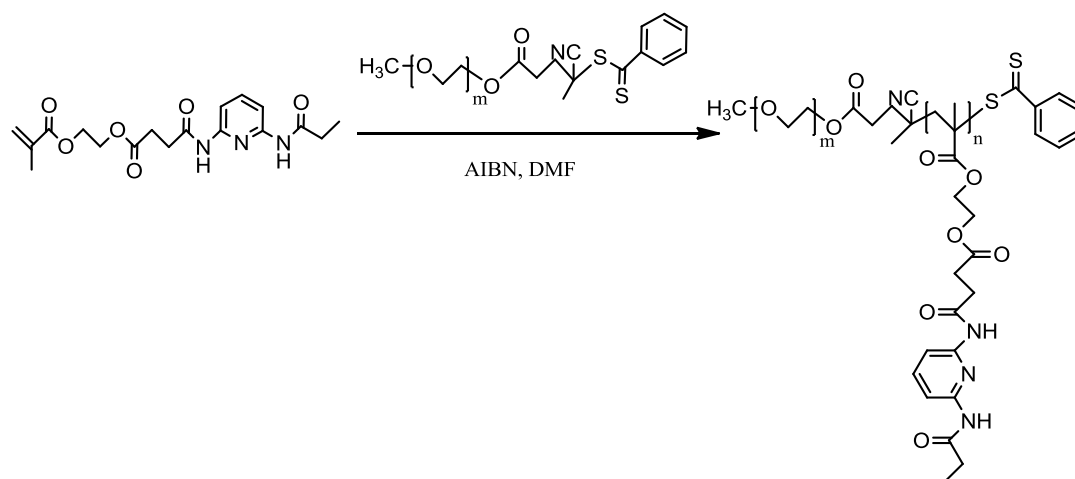


Fig. 3.4 Esquema del mecanismo de una polimerización RAFT (ref. 16)

La iniciación y la terminación por unión de radicales transcurren como en una polimerización radicalaria convencional. En las primeras etapas de la polimerización, la adición del radical de propagación ( $P_n^\bullet$ ) al agente de transferencia de cadena o CTA ( $Z-CXX-R$ , generalmente  $X=S$ , ditioéster) seguida de la fragmentación del enlace  $R-X$  da lugar a un polímero unido en uno de sus extremos al CTA y un nuevo radical que sigue reaccionado. Finalmente, el rápido equilibrio entre los dos radicales de propagación y el polímero “latente” unido a CTA proporcionan la misma probabilidad de crecimiento a todas las cadenas y permiten la obtención de polímeros con poca dispersidad. Cuando la polimerización se completa muchas de las cadenas retienen el CTA como grupo terminal y pueden ser aislados como materiales estables.<sup>16,17</sup> La reacción de polimerización RAFT para la obtención del copolímero PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP (2000 indica masa molar del PEG usado) es la siguiente:

<sup>16</sup> G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Polymer*, **2008**, 49, 1079-1131.



**Fig. 3.5** Reacción de polimerización RAFT para la obtención del copolímero PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP.

La síntesis de este polímero se realizó por duplicado y se utilizó el monómero diacrílico DAP, un macro-CTA comercial que contiene PEG de masa molar aprox. 2000 (por tanto en el CTA ya se introduce uno de los bloques del copolímero bloque final), AIBN que es un iniciador radicalario térmico y DMF anhidra como disolvente. En este caso el CTA es un ditiobenzoato, que están aconsejados para polimerizar metacrilatos.<sup>18</sup> Las concentraciones de monómero, macro-CTA e iniciador se ajustaron para obtener una masa molar de 5200 (g/mol) si la conversión era igual a 1. Esta masa molar responde a la ecuación 3.1 (siendo  $[M]$  la concentración de monómero inicial,  $[CTA]$  la concentración inicial de CTA,  $PM_M$  la masa molar de la unidad repetitiva y  $PM_{CTA}$  la masa molar del CTA).

$$M_n(\text{Teórica}) = \left( \frac{[M]}{[CTA]} \times PM_M \times \text{conversión} \right) + PM_{CTA}$$

**Ecuación 3.1**

La reacción se llevó a cabo en atmósfera inerte; antes de iniciarla se realizaron tres ciclos sucesivos de vacío (previa inmersión en nitrógeno líquido del matraz de reacción) e introducción de argón (a temperatura ambiente) para eliminar el O<sub>2</sub> ya que es un inhibidor radicalario. Una vez acondicionado el sistema, fue necesario precalentar el baño (80°C) e introducir el matraz posteriormente ya que el AIBN es un iniciador térmico y si la reacción no empieza a una temperatura fija la concentración de radicales no sería constante y el equilibrio del mecanismo se alteraría. Una vez iniciada la reacción se dejó transcurrir durante 3 horas y para finalizarla se introdujo el matraz Schlenk en nitrógeno líquido (*quenching*). El copolímero precipitó por adición del crudo de reacción sobre dietiléter frío. Dado que no tiene una masa molar elevada y es difícil de filtrar, se procedió a la centrifugación y posterior decantación para obtener el copolímero, que finalmente se lavó con dietiléter frío para eliminar posibles restos de disolventes u otras impurezas. Tras analizar el polímero por GPC se observó que todavía quedaban trazas de PEG residual. Se disolvió el polímero y se volvió a precipitar con el fin de eliminar el PEG. En uno de los experimentos se obtuvo el copolímero libre de PEG con éxito, sin embargo en el segundo no. En este caso se disolvió de nuevo en DCM y se hicieron extracciones con agua. Posteriormente se reprecipitó el polímero y tras analizar el GPC se observó que se había conseguido eliminar el PEG.

La masa molar promedio y la distribución del polímero fue obtenida mediante cromatografía de exclusión por tamaños o permeación en gel (GPC) con un detector de difusión de luz (*Light Scattering*) y utilizando estándares

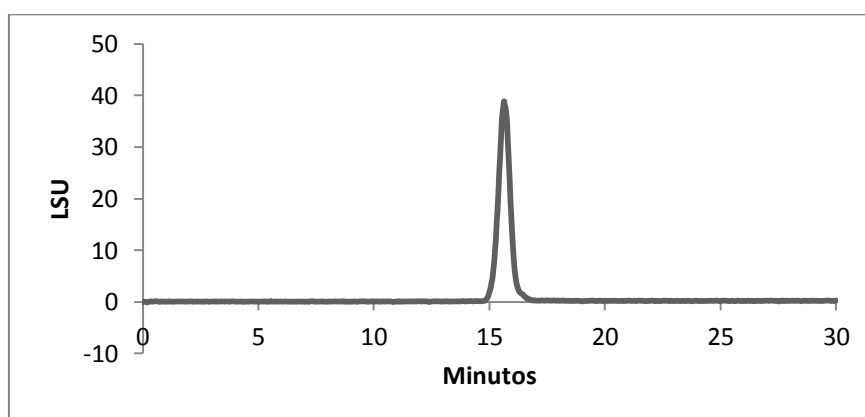
<sup>17</sup> G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Aust. J. Chem.* **2005**, 58, 379-410.

<sup>18</sup> ALDRICH comercializa estos CTA y tiene información al cliente en una página web para este tipo de consultas: <http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/polymer-science/raft-polymerization.html#classes>

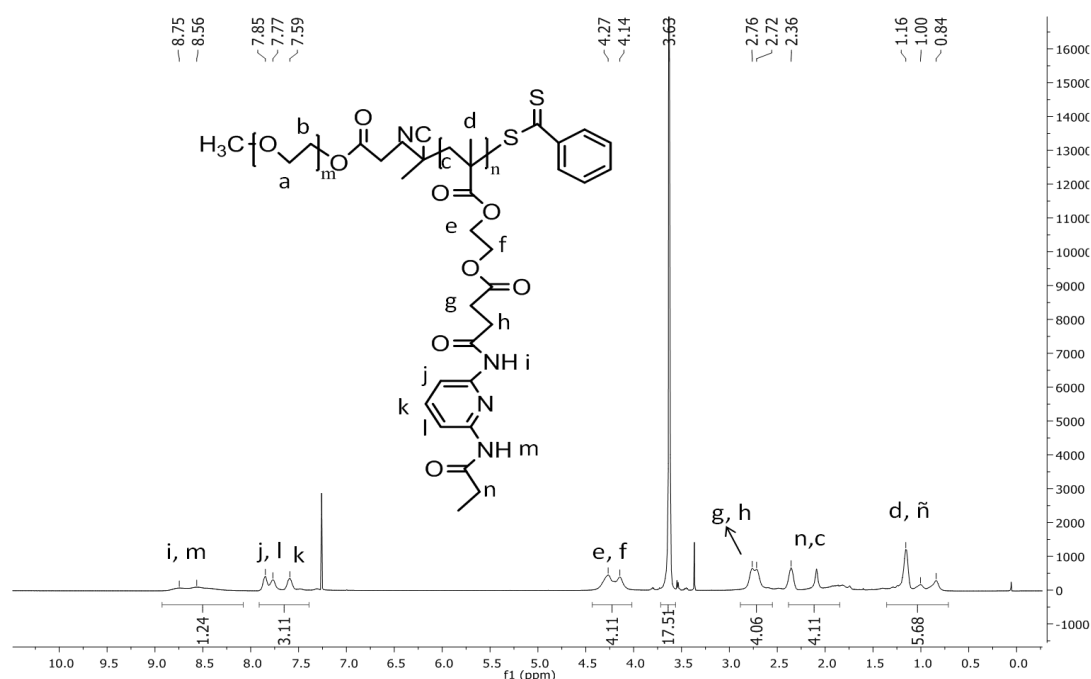
de poli(metacrilato de metilo) (Figura 3.6). La caracterización básica se llevó a cabo por FTIR y  $^1\text{H}$ -RMN (Ver apartado Anexos espectros D). La dispersidad de masas molares es baja (1.06) lo que corrobora que la polimerización ha transcurrido por un mecanismo controlado de polimerización radicalaria. Con el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN se puede calcular la relación entre las unidades repetitivas de cada bloque del copolímero: m y n. Se tomó como referencia las integraciones relativas de las señales correspondientes al bloque PDAP con respecto a la integración de la señal correspondiente a los hidrógenos del bloque PEG (Figura 3.7). Como se conoce la masa molar del bloque PEG y por lo tanto el valor de m (aunque es comercial se determinó previamente por MALDI-MS, Anexos apartado 5.A) se puede estimar la masa molar del bloque PDAP (Ver Tabla 3.1). Se comprobó que está en el orden de lo previsto de acuerdo a la ecuación 3.1.

**Tabla. 3.1** Masas molares promedio en número ( $M_n$ ) y en masa ( $M_m$ ) y dispersidad  $M_m/M_n$  por RMN y GPC

Polímero	$M_n$ ( $^1\text{H}$ RMN) (g/mol)	$M_n$ (GPC) (g/mol)	$M_m$ (GPC) (g/mol)	$M_m/M_n$ (GPC)
PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP	5750	6683	7114	1.06



**Fig. 3.6** GPC del copolímero PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP.

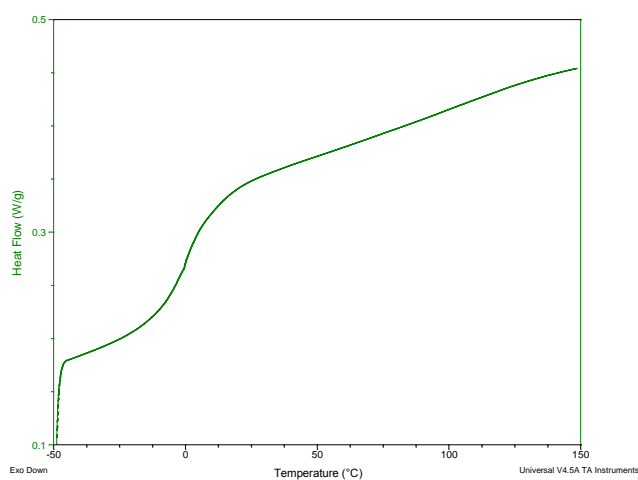


**Fig. 3.7**  $^1\text{H}$ -RMN del copolímero PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP.

La estabilidad térmica del polímero se estudió mediante termogravimetría (TGA). En la *Tabla 3.2* se recogen los datos más importantes de dicho estudio (*Ver en Anexos TGA apartado B*), donde se observa que es un polímero estable hasta 200°C. Por DSC se comprobó que es un material amorfo que solo presenta una transición vítrea a 1°C (*Figura 3.8*). La presencia de una sola transición nos permite afirmar que ambos bloques son solubles entre sí y por tanto no hay segregación de bloques; en caso contrario se verían las transiciones de cada bloque por separado y debe considerarse que el homopolímero o bloque de DAP presenta una  $T_g$  alrededor de 70°C.<sup>14</sup>

**Tabla 3.2** Estabilidad térmica determinada por TGA y su derivada (DTGA)

Polímero	T (perdida 2% masa)	T (perdida 5% masa)	T (onset TGA)	T (onset DGTA)	T max (DGTA)
PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP	211°C	229°C	247°C	234°C	259°C



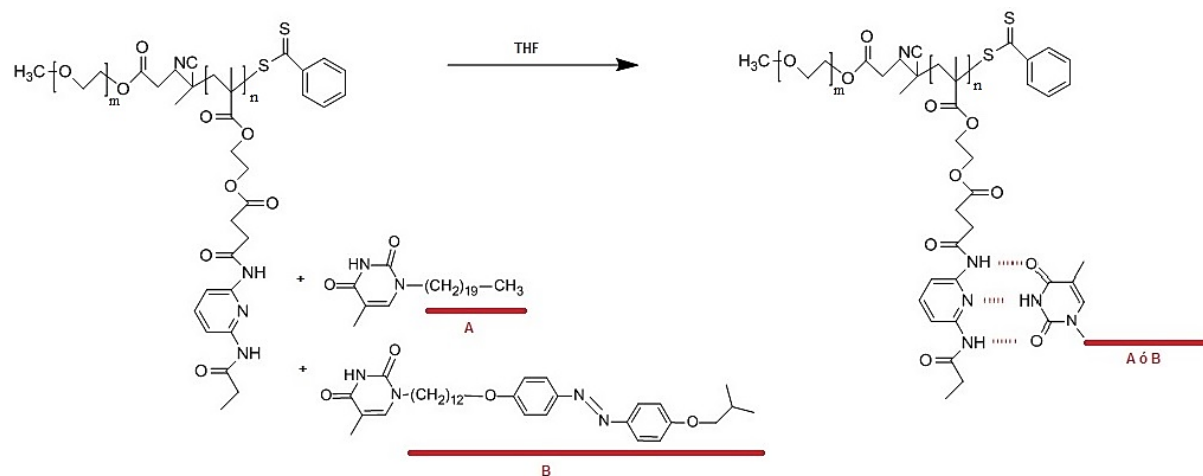
**Fig. 3.8** Curvas de DSC, 2ª calentamiento del copolímero PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP.

### 3.3. Preparación de los copolímeros supramoleculares.

Los copolímeros supramoleculares se formaron una vez obtenidos los compuestos derivados de timina y el copolímero bloque, presentados anteriormente. También se utilizó como producto de partida un copolímero bloque previamente disponible en el laboratorio de la misma estructura pero que tenía un bloque de PEG de masa molar aprox. 10000 y una masa molar de PDAP tal, que el porcentaje de este bloque es similar al sintetizado en este TFG. Para diferenciar ambos se incluye en la nomenclatura la masa del bloque PEG como subíndice.

Una de las ventajas de la vía supramolecular es que, obtenidos los productos de partida, es sencilla la preparación de una gran variedad de materiales finales. La preparación consistió en pesar una cantidad aprox. fija de copolímero y cantidades variables de los derivados de timina con el fin de obtener mezclas con diferentes composiciones molares de t-AZOi y t-C<sub>20</sub> y considerando que todas las unidades de 2,6-diacialaminopiridina se unen a timina. Una vez pesados se disolvieron en THF que es un disolvente común a los tres compuestos, se evaporó lentamente el disolvente y se obtuvo el material final por reconocimiento supramolecular vía enlaces de H. Dada la masa molar de los copolímeros, el porcentaje final de la parte hidrófoba en los materiales sintetizados se sitúa aproximadamente en 80% w. La finalidad de hacer mezclas con diferentes composiciones de derivados de timina reside en la búsqueda de materiales que sean capaces de autoensamblarse en agua formando micelas

esféricas o vesículas y que además den buenos resultados de respuesta a la luz con la menor cantidad del azoderivado.



**Fig. 3.9** Esquema de la formación de copolímeros supramoleculares (los derivados de timina A y B están presentes simultáneamente en diferentes porcentajes).

Estos copolímeros supramoleculares se caracterizaron mediante TGA para ver la estabilidad térmica, microscopia óptica de luz polarizada (MOP) para estudiar la posible segregación de fases y DSC. Los resultados obtenidos del análisis por TGA se presentan a continuación en la *Tabla 3.3* y se pueden comparar con las gráficas del apartado *Anexos TGA*:

**Tabla 3.3** Estabilidad térmica determinada por TGA y su derivada (DTGA)

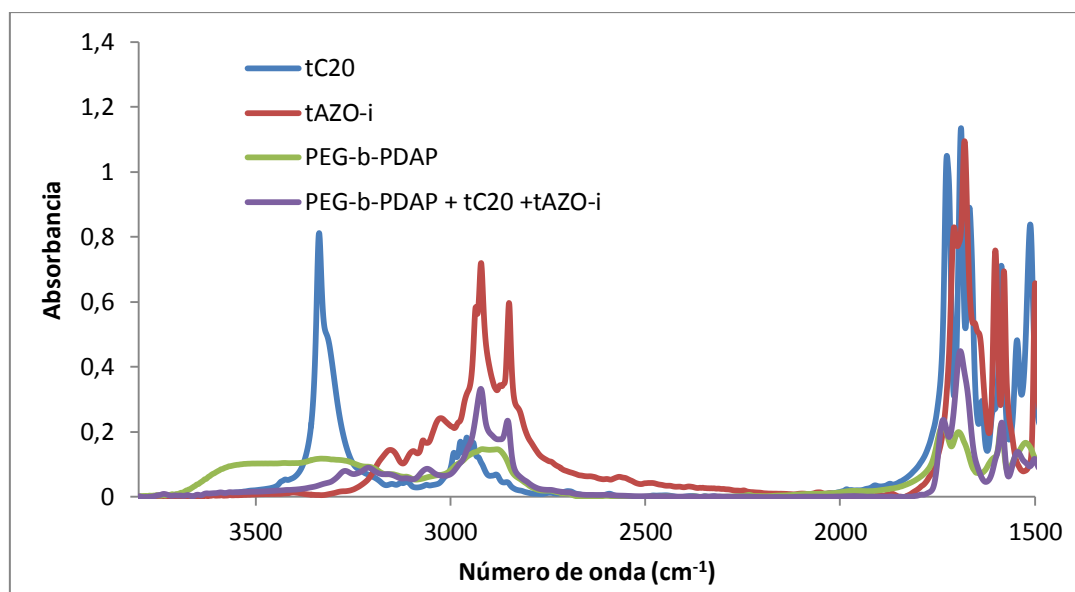
Polímero supramolecular	T (perdida 2% masa)	T (perdida 5% masa)	T (onset TGA)	T (onset DTGA)	T max (DGTA)
PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP • tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>75:25</b>	233°C	250°C	260°C	231°C	339°C
PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP • tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>50:50</b>	231°C	248°C	262°C	230°C	281°C
PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP • tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>25:75</b>	230°C	246°C	264°C	242°C	279°C
PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP • tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>75:25</b>	161°C	252°C	277°C	265°C	416°C
PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP • tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>50:50</b>	185°C	248°C	265°C	256°C	280°C
PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP • tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>25:75</b>	70°C*	114°C*	268°C	252°C	287°C

\*Pérdida de agua o disolvente orgánico.

El estudio por DSC es más complejo. Las curvas se muestran en los anexos. En todos los casos se observa un incremento de la Tg con respecto al copolímero y aparece entre 20 y 30°C que parece corresponder al bloque de PDAP modificado con los derivados de timina. En el caso de los derivados de PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP, no se observa

un pico de fusión del bloque de PEG, pero si en los derivados de PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP, sobre 50°C, lo que parece evidenciar que ahora ambos bloques no son miscibles entre sí. Además se observan picos de fusión por encima de T<sub>g</sub> (previa cristalización) debida a las cadenas laterales, más evidentes en los copolímeros PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP. Por microscopía óptica con luz polarizada y con una platina calefactora no se observó segregación de fases.

Estos polímeros supramoleculares también fueron estudiados por espectroscopía FTIR que es una técnica apropiada para la determinación de asociaciones por enlaces de hidrógeno. Los polímeros se depositaron en forma de película sobre pastillas de KBr (se disolvió 1,5mg de polímero en 0,5 mL de THF, se depositó sobre la pastilla de KBr y se dejó evaporar).



**Fig. 3.10.** Espectro de FTIR de PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP•tAZO-i/tC<sub>20</sub> (50/50), y sus componentes por separado: PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP, tAZO-i y tC<sub>20</sub>.

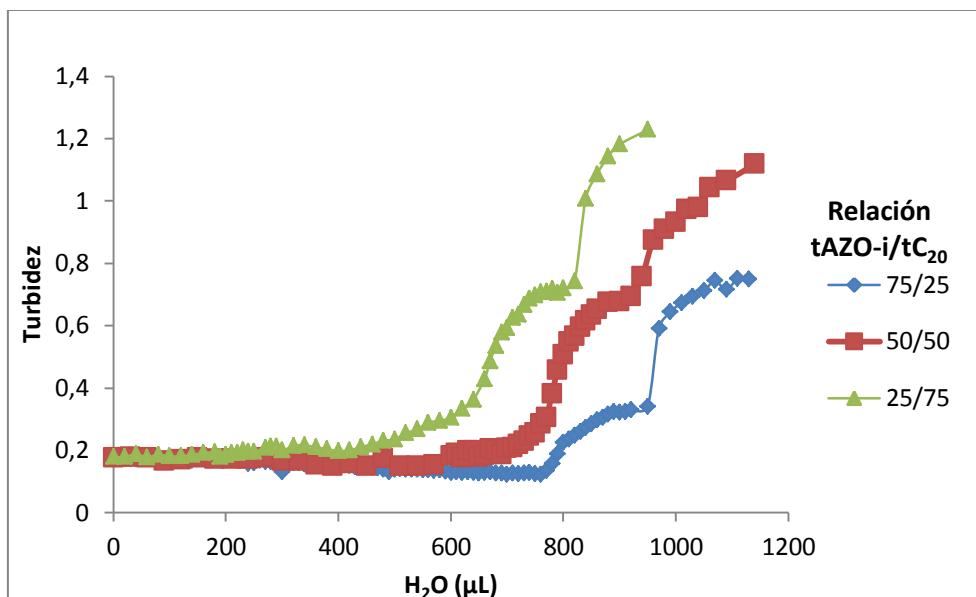
Si nos fijamos en la *figura 3.10*, en la región de la banda de tensión N-H (3300-3400 cm<sup>-1</sup>), se aprecia una disminución del número de onda en el copolímero supramolecular frente al copolímero inicial. Esto es debido a los enlaces de hidrógeno que forman las timinas con las unidades 2,6-diacilaminopiridinas de los polímeros que debilitan el enlace N-H desplazándolo a menores números de onda. Lo mismo sucede si comparamos la banda de tensión C=O de las timinas, que se desplazan hacia menores números de onda como consecuencia de los enlaces de hidrógeno cuando se forman los complejos supramoleculares. También se hizo un estudio tras un tratamiento térmico (200°C durante 5 minutos) para ver si se favorece homogenización; sin embargo las modificaciones eran mínimas lo que pone de manifiesto la buena homogenización inicial. (*Ver anexos, apartado 2 donde se recogen los espectros para los todos copolímeros*)

### 3.4. Autoensamblados en agua.

Las nanopartículas o ensamblados poliméricos en agua se prepararon por tres métodos diferentes y a partir de los copolímeros supramoleculares que contienen PEG<sub>10000</sub>. Los tres métodos se describen con más detalle en la parte experimental. En el primer método (A) se disuelven en THF (soluble en agua) y se añade lentamente agua hasta agregación (micelización). El proceso se sigue en el espectrómetro UV-vis midiendo la absorbancia a 650nm conforme se añade agua miliQ. Esta es una forma indirecta de comprobar la formación de agregados ya que la



disolución se pone cada vez más turbia y por tanto difunde luz, lo que provoca cambios en la medida. La *Figura 3.11* muestra estos cambios; el salto indica el momento en que se empiezan a formar los agregados. Una vez formados se someten a diálisis para eliminar el disolvente orgánico.

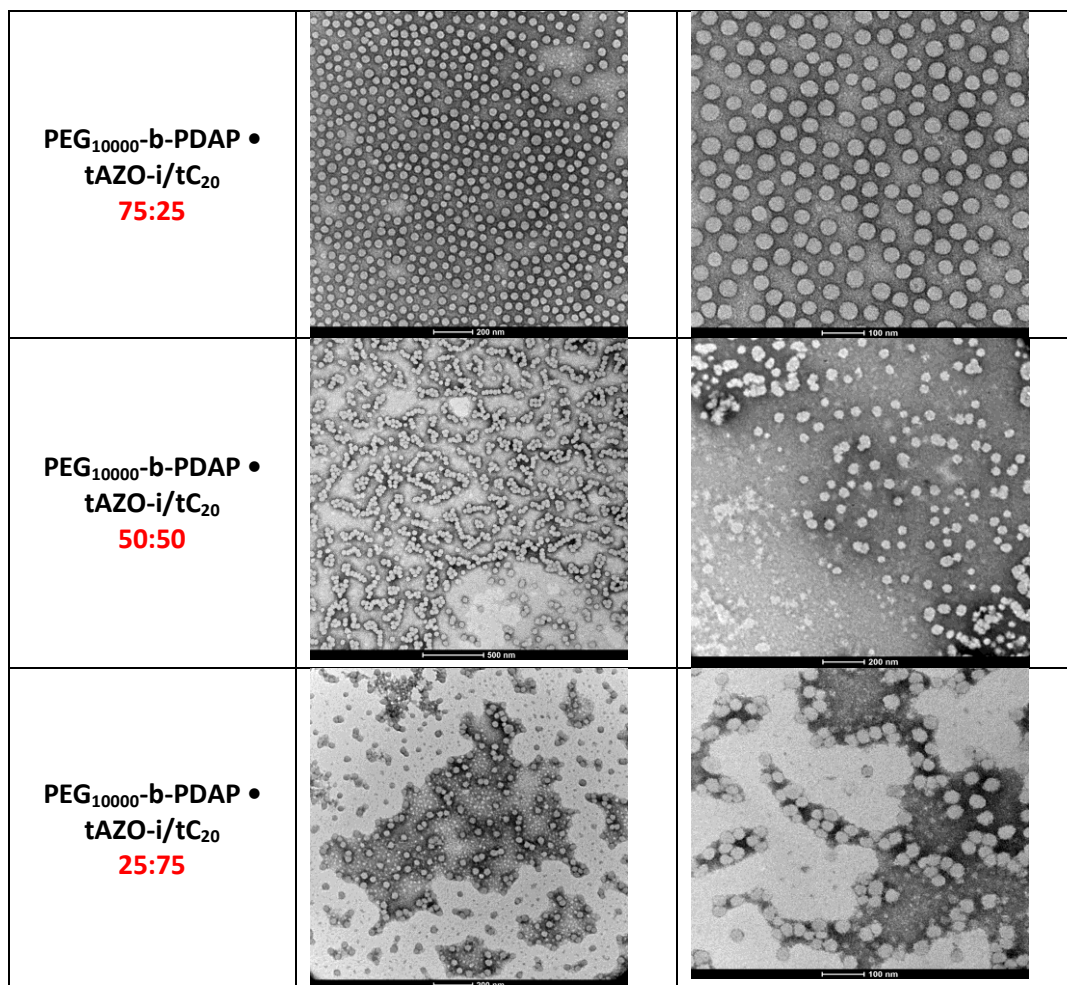


**Fig. 3.11** Curvas turbidimétricas observadas en la preparación de autoensamblados.

En los métodos (B) y (C) se sometieron a ultrasonidos (sonda) para dispersión directa en agua. La única diferencia es que en el método (C) se disuelve previamente en diclorometano (el diclorometano se evapora en la sonicación). Con este último método se consigue una aparente dispersión de la muestra.

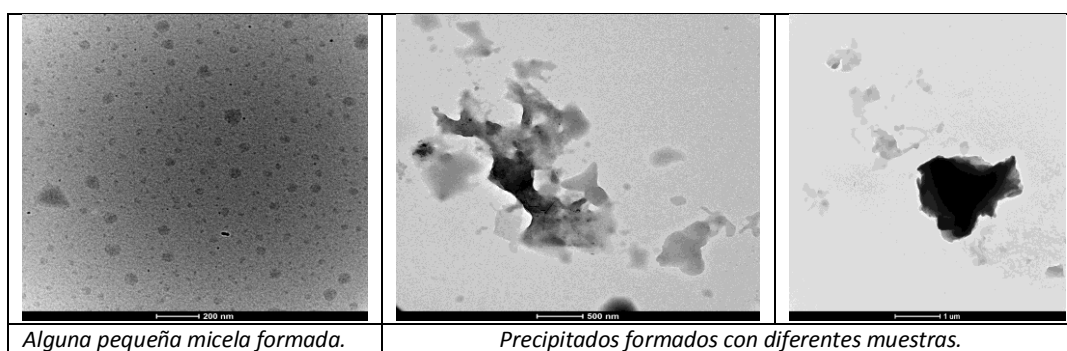
Una vez que se tuvieron todas las muestras se midió la concentración aproximada de cada una de ellas que resultó ser aprox. de 1,3 mg/mL y se diluyeron con el fin de alcanzar una nueva concentración, 0,5mg/mL, que nos permitió posteriormente visualizar en el *TEM* (Transmission Electron Microscopy) los autoensamblados formados. Se prepararon las muestras de medida sobre unas rejillas de Cu con película de C, se tiñeron y se secaron. Los resultados que se obtuvieron tras visualizar las diferentes muestras en el TEM fueron los siguientes:

- Los autoensamblados preparados por el *método A* dieron micelas esféricas, muy homogéneas, con un tamaño aproximado de 40 nm. Las de mayor proporción de compuesto azoico (tAZO-i/tC<sub>20</sub>, 75/25) dieron los mejores resultados ya que las micelas no se agregaron mientras que para las proporciones 50/50 y 25/75 había algunas zonas en las que formaban estructuras tipo gusano y en las que las vesículas comenzaban a agregarse (*Ver figura 3.12*), si bien mantenían su morfología.



**Fig. 3.12** Autoensamblados formados con el PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP • tAZO-i/tC<sub>20</sub>, método A.

- Las muestras preparadas por los métodos B y C no consiguieron formar micelas homogéneas y útiles. Como se puede ver en la Figura 3.13 si bien es posible identificar alguna pequeña micela formada el resto del compuesto agrega en tamaños micrométricos.



Alguna pequeña micela formada.

Precipitados formados con diferentes muestras.

**Fig. 3.13** Autoensamblados formados con el PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP • tAZO-i/tC<sub>20</sub> métodos B y C.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Síntesis y caracterización del monómero con la unidad de 2,6-diacilaminopiridina (DAP).

#### • Síntesis de 2-propanoilamino-6-aminopiridina (ver 1, Figura 3.1).

Para llevar a cabo esta reacción previamente hay que recrystalizar la 2-6-diaminopiridina en etanol (amina sensible a la oxidación). Se disuelve en un matraz de 250 mL la 2-6-diaminopiridina (7,454 g; 68,30 mmol) en 50 mL de THF seco bajo flujo de argón. Se disuelve también cloruro de propanoilo (3,16 g; 34,15 mmol) en 10 mL de THF seco y se adiciona gota a gota sobre la disolución anterior, en baño de hielo, durante aprox. 1 h. Después, se deja a temperatura ambiente durante 4 h. Transcurrido este tiempo se evapora el disolvente, se extrae con agua y se purifica por recrystalización en etanol/tolueno 1:6. Rto: 50%.

#### ➤ Caracterización.

Rf: 0,24; hexano/acetato de etilo 1:1 (eluyente), gel de sílice (fase estacionaria).

IR (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3478, 3370, 3226, (NH), 1674 (C=O), 1629, 1541, 1466, 793 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)  $\delta$  (ppm): 7.86 (s, 1H), 7.57-7.48 (m, 1H), 7.42 (dd, 1H, J=7.9 Hz, J=7.9 Hz), 6.23 (dd, 1H, J=7,9 Hz, J=0.7 Hz), 4.34 (s, 2H), 2.35 (c, 2H, J=7.5 Hz), 1.19 (t, 3H, J=7.5 Hz).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz)  $\delta$  (ppm): 172.3, 157.2, 150.0, 140.3, 104.3, 103.4, 30.8, 9.5.

#### • Síntesis de 2-(propanoilamino)-6-[3-(metacriloxietiloxicarbonil)-propanoilamino] piridina (DAP).

En un matraz de 50 mL se disuelve 2-propanoilamino-6-aminopiridina (2,2 g; 13,32 mmol) en 10 mL de diclorometano seco. Se conecta un flujo de Ar y se añade succinato de mono-2-metacrililoiloxietilo comercial (3,68 g; 15,98 mmol) y *p*-toluensulfonato de dimetilamino piridinio (DPTS) (4,99 g; 15,98 mmol). La mezcla se enfría en baño de hielo y se añade DIC (2,016 g; 15,98 mmol). La reacción se mantiene a temperatura ambiente durante 70 h. El producto obtenido se purifica por cromatografía de columna a presión sobre gel de sílice utilizando hexano/acetato de etilo 1:1 como eluyente y por último se recrystaliza en etanol y se lava con éter frío. Rto: 54%

#### ➤ Caracterización.

Rf: 0,21; hexano/acetato de etilo 1:1 (eluyente), gel de sílice (fase estacionaria).

IR (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3336 (NH), 1726, 1689 (C=O), 1636 (C=C), 1586, 1512, 1453 (Ar), 1315, 1151, (C-O), 806 (Ar).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)  $\delta$  (ppm): 8.01 (s, 2H), 7.89-7.79 (m, 2H), 7.68-7.63 (t, 1H, J=8 Hz, J=8 Hz), 6.11-6.10 (m, 1H), 5.57-5.55 (m, 1H), 4.37-4.35 (m, 4H), 2.80-2.77 (m, 2H), -2.70-2.67 (m, 2H), 2.41 (c, 2H, J=7.6 Hz), 1.92-1.91 (m, 3H), 1.23 (t, 3H, J=7.6 Hz).

<sup>13</sup>C-RMN (CdCl<sub>3</sub>, 100MHz)  $\delta$  (ppm): 172.5, 172.4, 167.3, 149.7, 149.2, 140.7, 135.9, 126.2, 109.5, 109.4, 62.6, 62.4, 32.1, 30.7, 29.3, 18.2, 9.4.

### 4.2. Síntesis y caracterización de los derivados de timina tAZO-i y tC<sub>20</sub>.

#### 4.2.1. Síntesis del 1-[12-(4-(4'-isobutiloxifenildiazo)feniloxi)dodecil]-5-metil-3H-pirimidin-2,4-diona (tAZO-i).

#### • Síntesis de 4-isobutiloxinitrobenzeno (ver 1, Figura 3.2).

En un matraz de 500 mL se introduce *p*-nitrofenol (13 g; 93,45 mmol), bromuro de isobutilo (25,61 g; 186,9 mmol) y se disuelve con 200 mL de DMF. Se añade K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> seco (38,74 g; 280,35 mmol) y una punta de espátula de KI. Se mantiene la reacción a 120°C con agitación a reflujo durante 10 h. La reacción se sigue

mediante CCF. Se añaden 200 mL de H<sub>2</sub>O destilada al crudo de reacción y se extrae con hexano/acetato de etilo 1:1. Seguidamente se lava con NaOH 2% y con una disolución de NaCl saturada. La fase orgánica se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro y tras filtrar se elimina el disolvente. Se obtiene un aceite que se purifica mediante cromatografía en columna a presión sobre gel de sílice utilizando como eluyente una mezcla de hexano/acetato de etilo 20:1. Rto: 95%.

➤ Caracterización.

**Rf:** 0,59; hexano (eluyente), gel de sílice (fase estacionaria).

**IR** (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 1593, 1343 (NO<sub>2</sub>), 1513, 1470 (Ar), 1266, 1020 (C-O), 845 (Ar).

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)  $\delta$  (ppm): 8.20-8.18 (m, 2H), 6.95-6.93 (m, 2H), 3.82 (d, 2H, J=6.8 Hz), 2.18-2.08 (m, 1H), 1.05 (d, 6H, J=6.8 Hz).

**<sup>13</sup>C-RMN** (CdCl<sub>3</sub>, 100MHz)  $\delta$  (ppm): 164.4, 141.2, 125.8, 114.4, 75.1, 28.0, 19.1.

• **Síntesis de 4-isobutiloxianilina (2).**

Antes de comenzar la reacción es necesario activar con precaución el Ni-Raney lavándolo con etanol y extrayendo el disolvente con una jeringuilla sin dejar secar por completo el catalizador. Se introducen en un matraz 4-isobutiloxinitrobenzono (1) (7 g; 35,85 mmol) e hidracina (3,61 g; 71,71 mmol) y se disuelven en 70 mL de etanol. La disolución se calienta a 40°C y se añade el Ni-Raney previamente activado hasta completar la reacción (cuando termina la reducción, la reacción deja de burbujear). La evolución de la reacción se sigue mediante CCF y hay que observar si ha desaparecido el nitrocompuesto (puede ser que la reacción deje de burbujear por falta de hidracina y en ese caso sería necesario adicionar más reductor). La mezcla resultante se filtra sobre lecho de celite para eliminar el catalizador (hay que evitar que se seque el Ni-Raney de la placa; para desactivarlo se lava con etanol y se añade arena). El disolvente se evapora en el rotavapor. Se obtiene un aceite que se disuelve en éter dietílico y posteriormente se lava con H<sub>2</sub>O y una disolución de NaCl saturada. La fase orgánica se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Rto: 71%. Este compuesto se utiliza poco después de ser obtenido para evitar la oxidación de la amina. Si hay que guardarlo, conviene hacerlo bajo atmósfera de argón.

➤ Caracterización.

**Rf:** 0,35; hexano/DCM 4:1 (eluyente), gel de sílice (fase estacionaria).

**IR** (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3431, 3352, 3218 (NH<sub>2</sub>), 1625, 1511, 1469 (Ar), 1235, 1036 (C-O), 824 (Ar).

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)  $\delta$  (ppm): 6.79-6.71 (m, 2H), 6.68-6.60 (m, 2H), 3.65 (d, 2H, J=6.8 Hz), 3.48 (s, 2H), 2.05 (m, 1H), 1.01 (d, 6H, J=6.8 Hz).

**<sup>13</sup>C-RMN** (CdCl<sub>3</sub>, 100MHz)  $\delta$  (ppm): 105.5, 143.1, 118.1, 114.4, 75.1, 28.2, 19.1.

• **Síntesis de 4-isobutiloxi-4'-hidroxiazobenceno (3).**

En un matraz de 250 mL se añade la 4-isobutiloxianilina (2) (4,18 g; 25,3 mmol) sobre 12,5 mL de HCl 6M y se coloca en un baño de hielo. Se agita la mezcla y se añade gota a gota NaNO<sub>2</sub> (1,74 g; 25,3 mmol) disueltos en 20 mL de H<sub>2</sub>O. Se mantiene en agitación durante 30 min a 0°C y transcurrido este tiempo se añade fenol (2,38 g; 25,3 mmol) disuelto en una disolución acuosa de NaOH (2M, 10 mL). La reacción se mantiene en las mismas condiciones otros 30 min. Posteriormente se quita el baño de hielo y se deja agitando 3 h a temperatura ambiente. Después se añade una disolución de NaHCO<sub>3</sub> hasta pH neutro. Se lava el precipitado formado con abundante agua y se seca. El producto se purifica por cromatografía en columna a presión sobre gel de sílice utilizando DCM como eluyente (se probó alternativamente una recristalización en etanol, pero no se obtuvieron los resultados deseados). Rto: 72%.

➤ Caracterización.

**Rf:** 0,13; DCM (eluyente), gel de sílice (fase estacionaria).

**IR** (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3140 (OH), 1586, 1504, 1462 (Ar), 1260, 1149 (C-O), 838 (Ar).

**$^1\text{H}$ -RMN** ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm): 7.87-7.81 (m, 4H), 7.00-6.91 (m, 4H), 5.40 (s, 1H), 3.81 (d, 2H,  $J=6.8$  Hz), 2,17-2.07 (m, 1H), 1,06 (d, 6H,  $J=6.8$  Hz).

**$^{13}\text{C}$ -RMN** ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm): 161.4, 157.8, 147.2, 146.8, 124.5, 124.4, 115.8, 114.8, 74.2, 28.3, 19.2.

• **Síntesis de 4-isobutiloxi-4'-(12-bromododeciloxi)azobenceno (4).**

Se adiciona en un matraz de 250 mL 1,12-dibromododecano (4,86 g; 14,81 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  seco (4,05 g; 29,72 mmol) y éter 18-corona-6 (0,39 g; 0,148 mmol) y se disuelven en 15 mL de acetona. La mezcla de reacción se lleva a 60°C y se añade gota a gota una disolución de 4-isobutiloxi-4'-hidroxiazobenceno (3) (4 g; 14,81 mmol) con 60 mL de acetona. La reacción se mantiene a reflujo con agitación durante 20 h. El seguimiento de la reacción se realiza mediante CCF. Se elimina el disolvente en el rotavapor, el sólido obtenido se disuelve con DCM y se lava con HCl 2M, posteriormente con agua y por último con NaCl saturado. La fase orgánica se seca con  $\text{MgSO}_4$  anhidro, se filtra y se elimina el disolvente. La purificación del producto se realiza mediante cromatografía en columna a presión sobre gel de sílice utilizando una mezcla de hexano/DCM 3:1 como eluyente. Rto: 42%.

➤ Caracterización.

**Rf:** 0,60; hexano/DCM 1:1 (eluyente), gel de sílice (fase estacionaria).

**IR** (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1600, 1579, 1498, 1469 (Ar), 1236, 1023 (C-O), 552 (C-Br).

**$^1\text{H}$ -RMN** ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm): 7.87-7.85 (m, 4H), 7.26-6.97 (m, 4H), 4.03 (t, 2H,  $J=6.8$  Hz), 3.81 (d, 2H,  $J=6.4$  Hz), 3.41 (t, 2H,  $J=7.2$  Hz), 2.12 (m, 1H), 1.87-1.80 (m, 4H), 1.49-1.26 (m, 16H), 1.06 (d, 6H,  $J=6.8$  Hz).

**$^{13}\text{C}$ -RMN** ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm): 161.3, 161.1, 146.9, 146.9, 124.4, 114.7, 114.7, 74.7, 68.4, 34.0, 32.9, 29.5, 29.4, 29.4, 29.2, 28.8, 28.3, 28.2, 26.0, 19.2.

• **Síntesis de 1-[12-(4-(4'-isobutiloxifenildiazo)feniloxi)dodecil]-5-metil-3H-pirimidin-2,4-diona (tAZO-i) (5).**

En un matraz se introducen 4-isobutiloxi-4'-(12-bromododeciloxi)azobenceno (4) (2,5 g; 4,83 mmol), timina (1,83 g; 14,49 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  seco (2 g; 14,49 mmol) y 150 mL de DMSO. La reacción se mantiene en agitación y a 70°C durante 72 h. Una vez finalizada se añaden 100 mL de acetato de etilo y se lava con agua destilada y seguidamente con una disolución de NaCl saturada. La fase orgánica se seca con  $\text{MgSO}_4$  anhidro. Se filtra y se evapora el disolvente. El sólido obtenido se purifica mediante cromatografía en columna a presión sobre gel de sílice utilizando como eluyente hexano/acetato de etilo 4:1 y aumentando gradualmente la polaridad. El sólido final se recrystaliza en etanol. Rto: 34%.

➤ Caracterización.

**Rf:** 0,48; hexano/acetato de etilo 1:1 (eluyente), gel de sílice (fase estacionaria).

**IR** (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3154 (NH), 3032 (=C-H), 1681 (C=O), 1601 (C=C), 1580, 1499, 1471 (Ar), 1241, 1145 (C-O), 838 (Ar).

**$^1\text{H}$ -RMN** ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm): 8.28 (s, 1H), 7.88-7.86 (m, 4H), 7.26-6.97 (m, 5H), 4.04 (t, 2H,  $J=6.4$  Hz), 3.82 (d, 2H,  $J=6.4$  Hz), 3.71-3.67 (m, 2H), 2.14 (m, 1H), 1.94 (d, 3H,  $J=0.8$ ), 1.88-1.77 (m, 2H), 1.70-1.64 (m, 2H), 1.37-1.25 (m, 16H), 1.07 (d, 6H,  $J=6.8$  Hz).

**$^{13}\text{C}$ -RMN** ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm): 163.9, 161.2, 150.5, 140.4, 124.3, 114.7, 74.7, 68.3, 48.6, 26.5, 28.3, 26.4, 26.0, 19.3, 12.3.

#### 4.2.2. Síntesis de 1-eicosil-5-metil-3H-pirimidin-2,4-diona (tC<sub>20</sub>).

Se introduce en un matraz de 250 mL, 1-bromoeicosano (5 g; 13,83 mmol), timina (5,23 g; 41,50 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5,74 g; 41,50 mmol) y se disuelve en 200 mL de DMSO. Se lleva la reacción con agitación a 60°C y se mantiene durante 48 h. La reacción se sigue por CCF. Una vez concluida se deja enfriar a temperatura ambiente. Se realiza una extracción con H<sub>2</sub>O y después con hexano/acetato de etilo 1:1 (x2). La fase orgánica se lava con H<sub>2</sub>O y con NaCl saturado (x2), después se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro. Se filtra y se evapora el disolvente en el rotavapor. El sólido obtenido se purifica por cromatografía en columna a presión sobre gel de sílice utilizando como eluyente hexano/acetato de etilo 2:1 (inicialmente se hizo una recristalización en hexano/DCM 9:1, sin conseguir una purificación adecuada). Rto: 32%.

##### ➤ Caracterización.

**Rf:** 0,38; hexano/acetato de etilo 1:1 (eluyente), gel de sílice (fase estacionaria).

**IR** (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3157 (NH), 3069 (=C-H), 1683 (C=O), 1640 (C=C).

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)  $\delta$  (ppm): 8.51 (s, 1H), 6.97 (c, 1H, J=1.2 Hz), 3.69-3.66 (m, 2H), 1.92 (d, 3H, J=1.2 Hz), 1.68-1.64 (m, 2H), 1.31-1.25 (m, 34H), 0.88-0.86 (m, 3H).

**<sup>13</sup>C-RMN** (CdCl<sub>3</sub>, 100MHz)  $\delta$  (ppm): 163.8, 150.6, 140.4, 110.5, 48.6, 31.9, 29.7, 26.4, 22.7, 14.1, 12.3.

#### 4.3. Síntesis y caracterización del copolímero de PEG-b-PDAP (PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP).

La polimerización se lleva a cabo en un reactor Schlenk. Se introduce en este el monómero DAP (300 mg; 0,795 mmol), el agente de transferencia macromolecular CTA-PEG (187,16 mg; 0,094 mmol), AIBN (2,30 mg; 0,014 mmol) y 4 mL de DMF anhidra. Se realizan tres ciclos vacío-argón y se coloca el Schlenk en un baño precalentado a 80°C. La reacción se mantiene con agitación a esta temperatura durante 3 h. Después se introduce el Schlenk en nitrógeno líquido (*quenching*) y se precipita el crudo en dietiléter frío. El precipitado se centrifuga y se lava posteriormente con dietiléter frío. Para purificar el compuesto se disuelve el polímero en DCM y se vuelve a precipitar con el fin de eliminar el PEG residual. En el caso de que esta técnica no funcione, se disuelve el polímero en DCM, se hacen extracciones con agua y posteriormente se vuelve a precipitar el polímero. Rto: 75%

##### ➤ Caracterización.

**IR** (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3330 (NH), 1736 (C=O), 1586, 1524, 1449 (Ar), 1244, 1151 (C-O).

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)  $\delta$  (ppm): 8.93-8.08 (m, 2H), 7.93-7.34 (m, 3H), 4.43-4.02 (m, 4H), 3.70-3.55 (m, 18H), 2.87-2.53 (m, 4H), 2.44-1.85 (m, 4H), 1.36-0.71 (m, 6H).

#### 4.4. Preparación de los copolímeros supramoleculares.

Para preparar las mezclas se pesa en la balanza de precisión la cantidad correspondiente de polímero, tAZO-i y tC<sub>20</sub> y se introducen en un tubo "clip". Se disuelven con THF de calidad HPLC y se filtran (filtros de 0,2 micras de teflón) para eliminar posibles residuos sólidos. Se mantienen en agitación mecánica para que se vaya evaporando poco a poco el disolvente (2-3 semanas). Una vez se ha evaporado, se secan a vacío a temperatura ambiente. Los polímeros que se utilizan en las mezclas son PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP y PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP.

Complejo supramolecular	Polímero	tAZO-i	tC <sub>20</sub>
PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP + tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>75:25</b>	30mg de PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP	20,6 mg de tAZO-i	5,0 mg de tC <sub>20</sub>
PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP + tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>50:50</b>	30mg de PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP	13,7 mg de tAZO-i	9,9 mg de tC <sub>20</sub>
PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP + tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>25:75</b>	30mg de PEG <sub>10000</sub> -b-PDAP	6,9 mg de tAZO-i	14,9 mg de tC <sub>20</sub>
PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP + tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>75:25</b>	30mg de PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP	20,8 mg de tAZO-i	5,0 mg de tC <sub>20</sub>
PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP + tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>50:50</b>	30mg de PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP	13,8 mg de tAZO-i	10,0 mg de tC <sub>20</sub>
PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP + tAZO-i/tC <sub>20</sub> <b>25:75</b>	30mg de PEG <sub>2000</sub> -b-PDAP	6,9 mg de tAZO-i	15,1 mg de tC <sub>20</sub>

#### 4.5. Autoensamblados en agua.

Los autoensamblados en agua se han preparado por tres métodos diferentes con los copolímeros supramoleculares de PEG<sub>10000</sub>:

- PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP + tAZO-i/tC<sub>20</sub> **75:25**
- PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP + tAZO-i/tC<sub>20</sub> **50:50**
- PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP + tAZO-i/tC<sub>20</sub> **25:75**

##### 1<sup>er</sup> método (A):

Se disuelven 5 mg de muestra en tres tubos diferentes, tipo “clip”, en 5 mL de THF (grado HPLC) previamente filtrado con filtro de teflón de 0,2 µm. Después se añade H<sub>2</sub>O miliQ progresivamente (de 10 en 10 µL). El seguimiento de la formación de nanopartículas se hace mediante espectroscopía UV-vis a λ=650nm. Se va tomando nota de la absorbancia que da el aparato cada vez que se le adicionan los 10 µL de H<sub>2</sub>O (una vez estabilizada la medida). Cuando se alcanza un valor aproximadamente constante, se introduce en una membrana y se dializa en agua miliQ con el fin de eliminar el THF. Se cambia el agua de la diálisis cada 24h y durante 4 días consecutivos. Tras la diálisis se pasaron las disoluciones con los autoensamblados a una probeta para medir el volumen y poder así calcular una concentración aproximada que resultó ser 1,3 mg de copolímero supramolecular por mL de agua. Estas mezclas se diluyeron con agua hasta tener una concentración aproximada de 0,5mg/mL.

##### 2<sup>o</sup> método (B):

Se disuelve 1mg de cada compuesto en un tubo “clip” con 1ml de H<sub>2</sub>O miliQ, y se sonica con una sonda en un equipo Hielscher UP400s trabajando a 70% de potencia y con ciclos de 1s encendido+1s apagado, durante 20 min.

##### 3<sup>er</sup> método (C):

Se disuelve 1mg de cada compuesto en un tubo “clip”, se añade 100µL de DCM para disolverlo y posteriormente 1ml de H<sub>2</sub>O miliQ. Las condiciones de sonicación son iguales al método B (DCM se evapora en la sonicación).

Las mezclas preparadas con los métodos B y C también se diluyeron a una concentración de 0,5mg/mL.

Para el estudio por TEM, una vez que se tuvieron las concentraciones adecuadas se deposita una gota sobre una rejilla de cobre con película de carbono. Se esperaron 30 segundos y se eliminó la muestra no depositada por capilaridad con un papel de filtro. Seguidamente se añadió una gota de acetato de uranilo (tinte), se esperó otros 30 segundos y se retiró por capilaridad. Las muestras preparadas se dejaron a secar 12 h a vacío.



## 5. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones de este trabajo son:

- Mediante polimerización RAFT es factible obtener copolímeros bloque de estructura controlada y naturaleza anfífila. El copolímero bloque está formado por PEG (hidrófilo) y un polimetacrilato que contiene unidades de 2,6-diacilaminopiridina PDAP (hidrófobo).
- Los derivados de timina pueden modificar las propiedades del copolímero. Se han sintetizado dos compuestos tAZO-i y tC<sub>20</sub> que se unen lateralmente al bloque de PDAP mediante enlaces de H múltiples entre unidades de timina y 2,6-diacilaminopiridina. Gracias a este reconocimiento se sintetizaron copolímeros bloque supramoleculares anfífilos variando las proporciones de las unidades de cadena lateral. En todos ellos se calculó que la parte hidrófoba final resultase ser aproximadamente de un 80%w y se utilizaron para preparar nanopartículas fotoestimulables.
- Los precursores del copolímero supramolecular y el copolímero se estudiaron por <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN e IR y también se les realizaron análisis de sus propiedades térmicas (TGA y DSC). En los copolímeros bloque supramoleculares también se estudiaron las propiedades térmicas y se vio que eran homogéneos y que no presentaban segregación de fases. El estudio por IR demostró la presencia de enlaces de H.
- Se probaron tres métodos de formación de nanopartículas micelares en agua y se comprobó que el método de disolución en THF y adición de agua es el más óptimo. Con este método se han obtenido micelas esféricas homogéneas de aprox. 40 nm de diámetro, de acuerdo al estudio por TEM. El porcentaje de derivados de timina influye en la tendencia a agregar de estas nanopartículas.

Como conclusión final se puede afirmar que **la vía supramolecular es adecuada para la formación de copolímeros bloque funcionales** (en este caso con unidades fotosensibles), no segregados y que dan lugar a **nanopartículas poliméricas homogéneas**, con potencial utilidad para encapsular y liberar moléculas hidrófobas.



## CONCLUSIONS

The main conclusions of this work are:

- Using RAFT polymerization is possible to obtain block copolymers with a controlled structure and having amphiphilic nature. The block copolymer is composed of PEG (hydrophilic) and a polymethacrylate containing units of 2,6-diacylamino-pyridine, PDAP (hydrophobic).
- Thymine derivatives can modify the properties of the block copolymer. We have synthesized tAZO-i and TC<sub>20</sub>, two compounds that can be laterally linked to the PDAP block through multiple hydrogen bonds between thymine and 2,6-diacylamino-pyridine units. By means of this molecular recognition, supramolecular amphiphilic block copolymers were synthesized with different proportions of side chain units. The final hydrophobic part was tuned to be about 80%w in all compounds and they were used to prepare photoresponsive nanoparticles.
- The precursors of supramolecular copolymer and the copolymer were studied by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR and IR. Thermal properties (TGA and DSC) were also studied. In supramolecular block copolymers, thermal properties were also studied and they behave as homogeneous materials and show no phase segregation. The IR study demonstrated the presence of hydrogen bonds.
- Three methods of preparing polymeric nanoparticles or aggregates in water were tested and it was found that the method of solving in THF and progressive addition of water is the optimum one. By this method, uniform spherical micelles with approx. 40 nm diameter were obtained for the tested block copolymers, according to the study by TEM. The thymine derivative percentage influences on the tendency to aggregate of these nanoparticles.

As a final conclusion we can say that **supramolecular approach is suitable for the preparation of functional block copolymers** (in this case with photosensitive units), not segregated and leading to **homogeneous polymeric nanoparticles**, with potential application to encapsulate and release hydrophobic molecules.



## ANEXOS:

### 1. Espectros (FTIR, $^1\text{H}$ -RMN, $^{13}\text{C}$ -RMN).

#### A.1. Intermedio monómero (1, ver Figura 3.1):

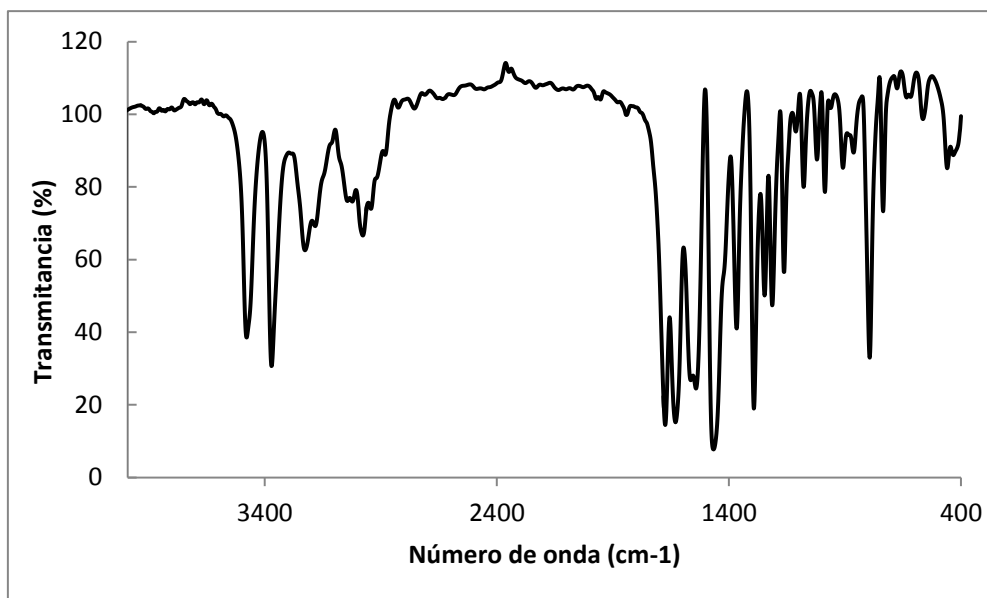


Fig. A.1.1 Espectro de FTIR (KBr)

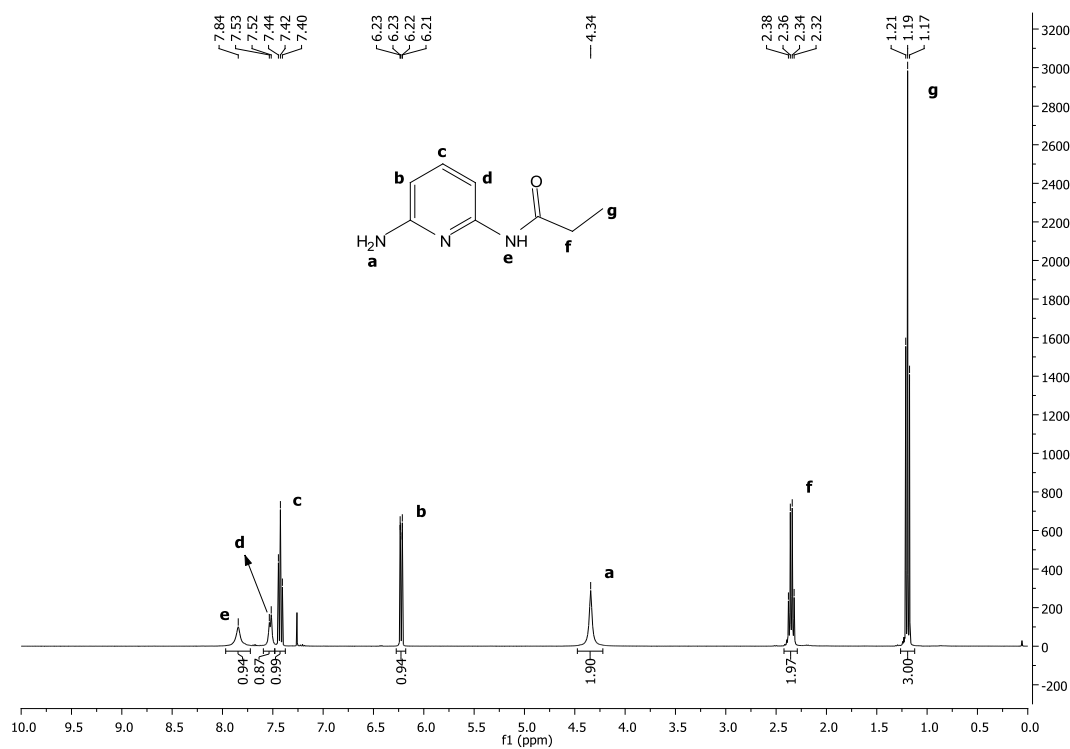


Fig. A.1.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)

Anexos: Espectros (FTIR,  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN)

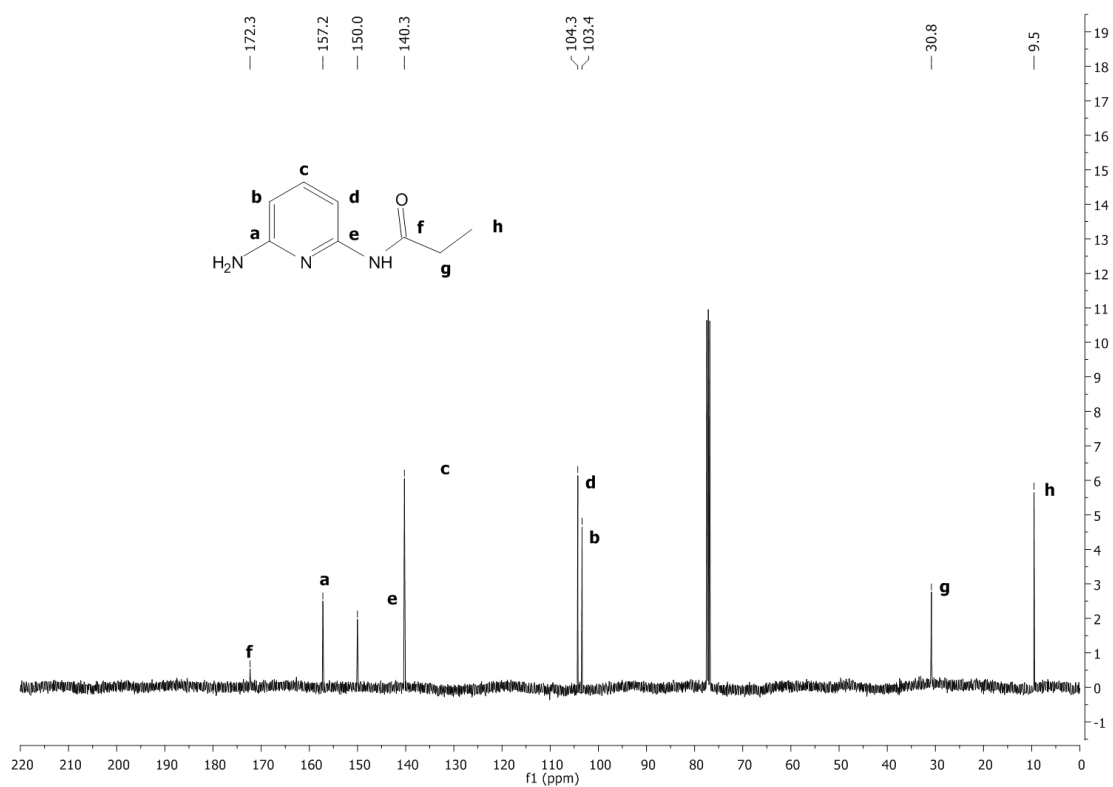


Fig. A.1.3 Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz)  $\delta$  (ppm)

A.2. Monómero DAP:

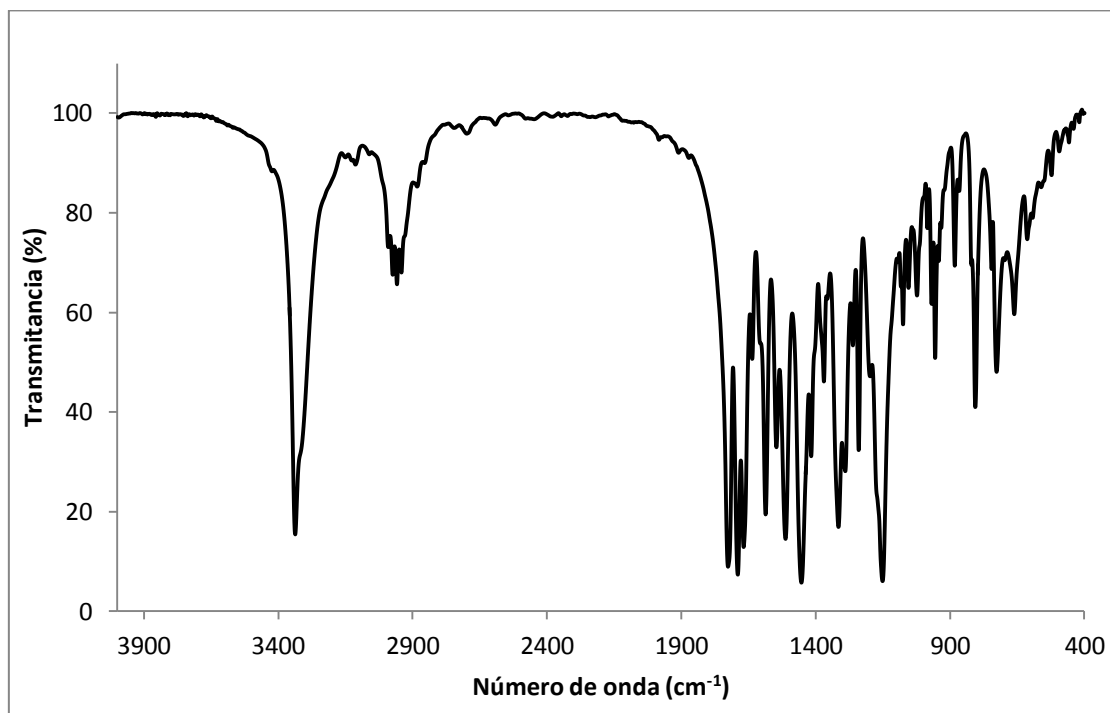


Fig. A.2.1 Espectro de FTIR (KBr)

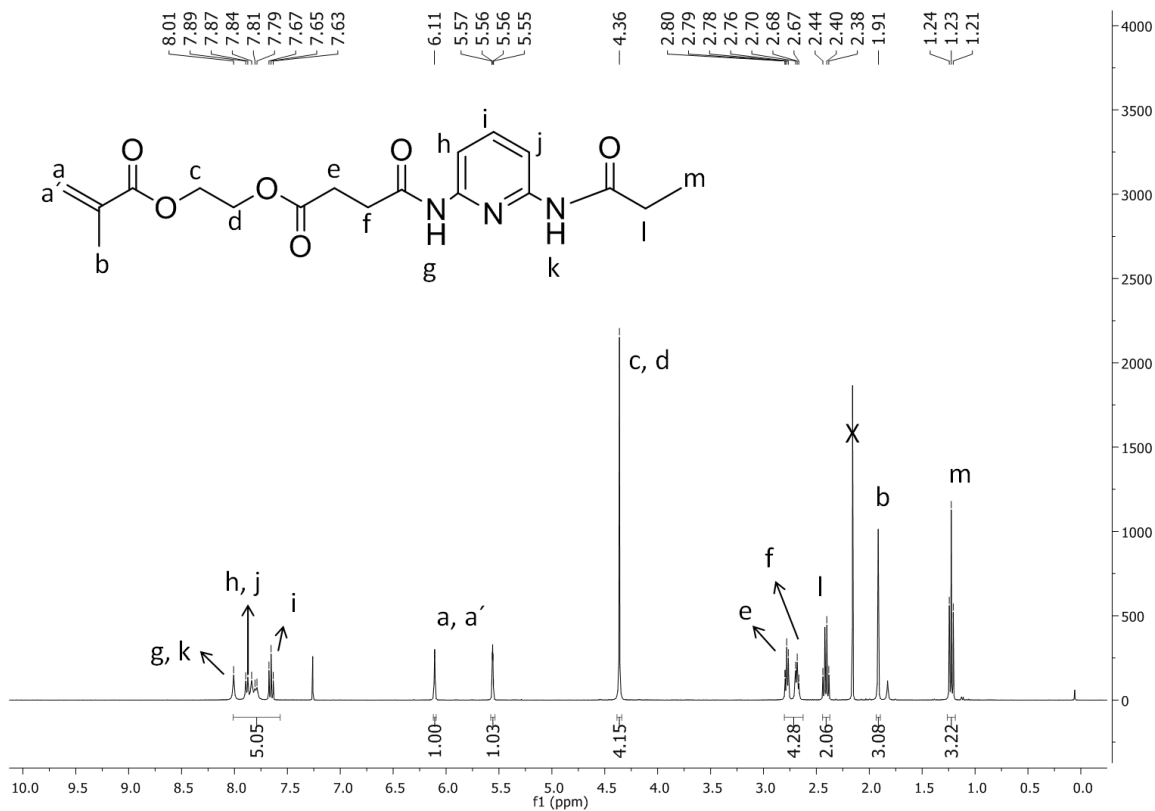


Fig. A.2.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)



Fig. A.2.3 Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm)



B.1. Compuesto 1, ver Figura 3.2:

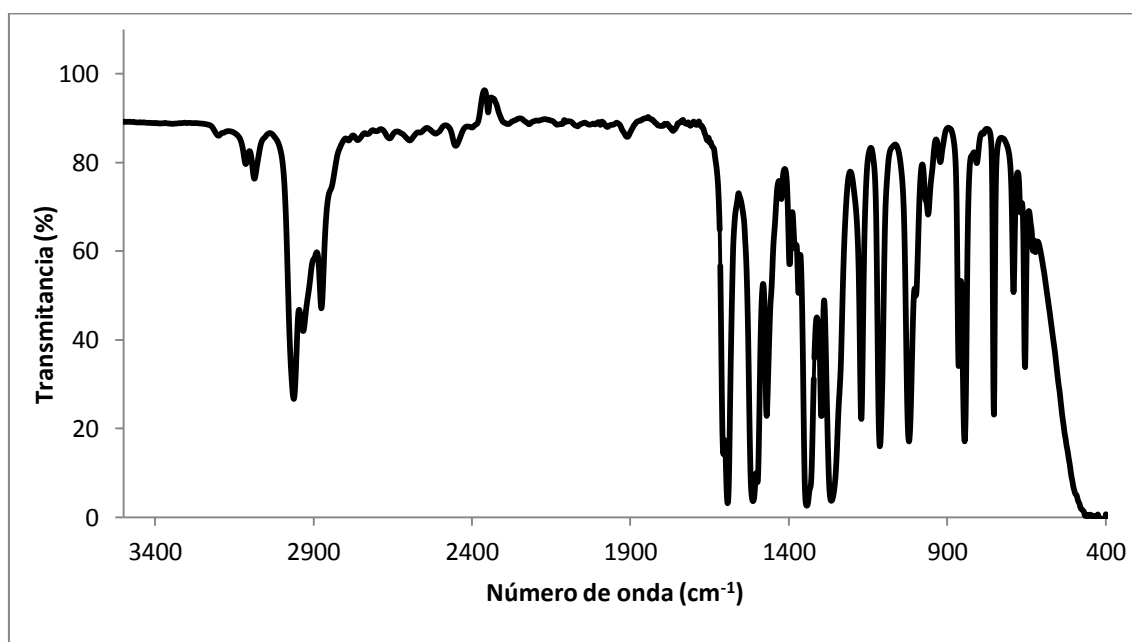


Fig. B.1.1 Espectro de FTIR (KBr)

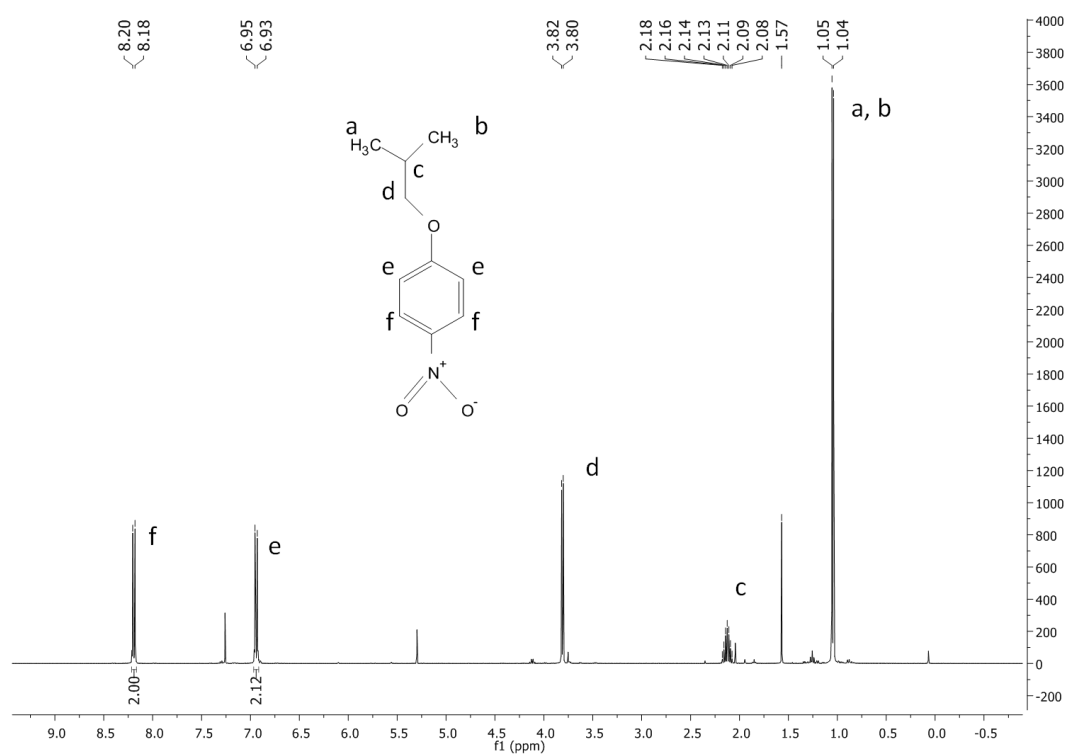


Fig. B.1.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)

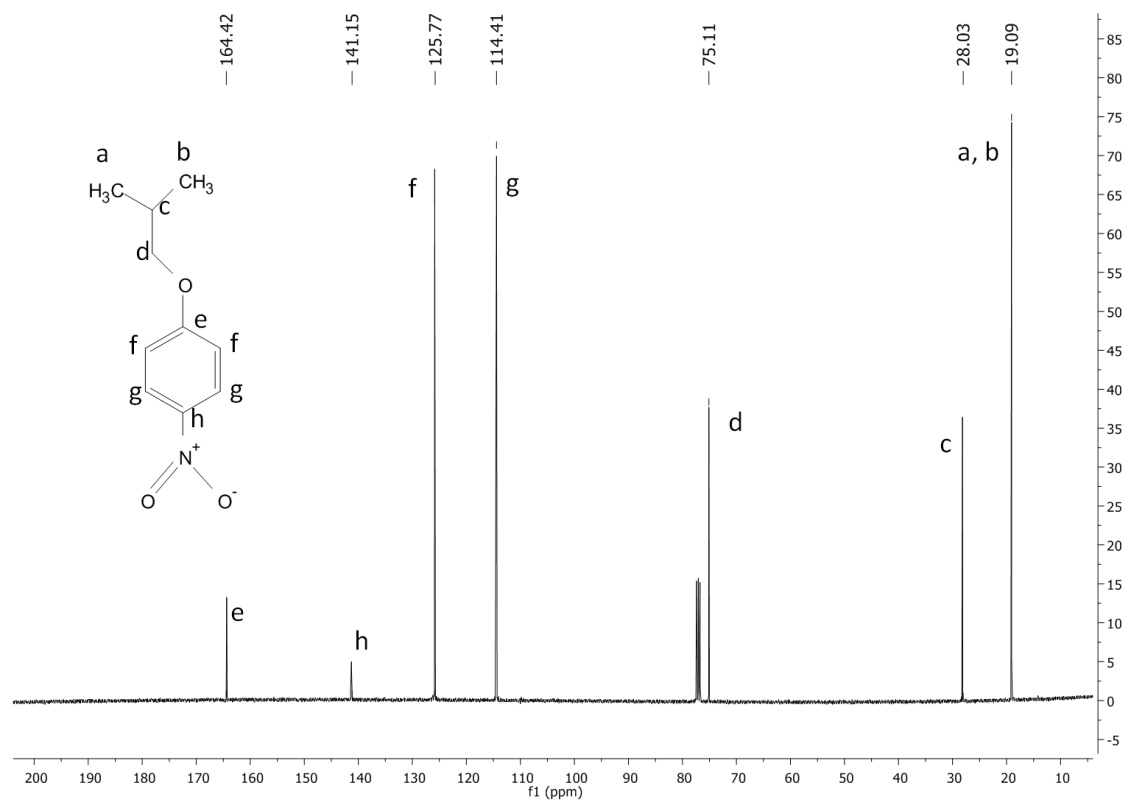


Fig. B.1.3 Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm)

B.2. Compuesto 2, ver Figura 3.2:

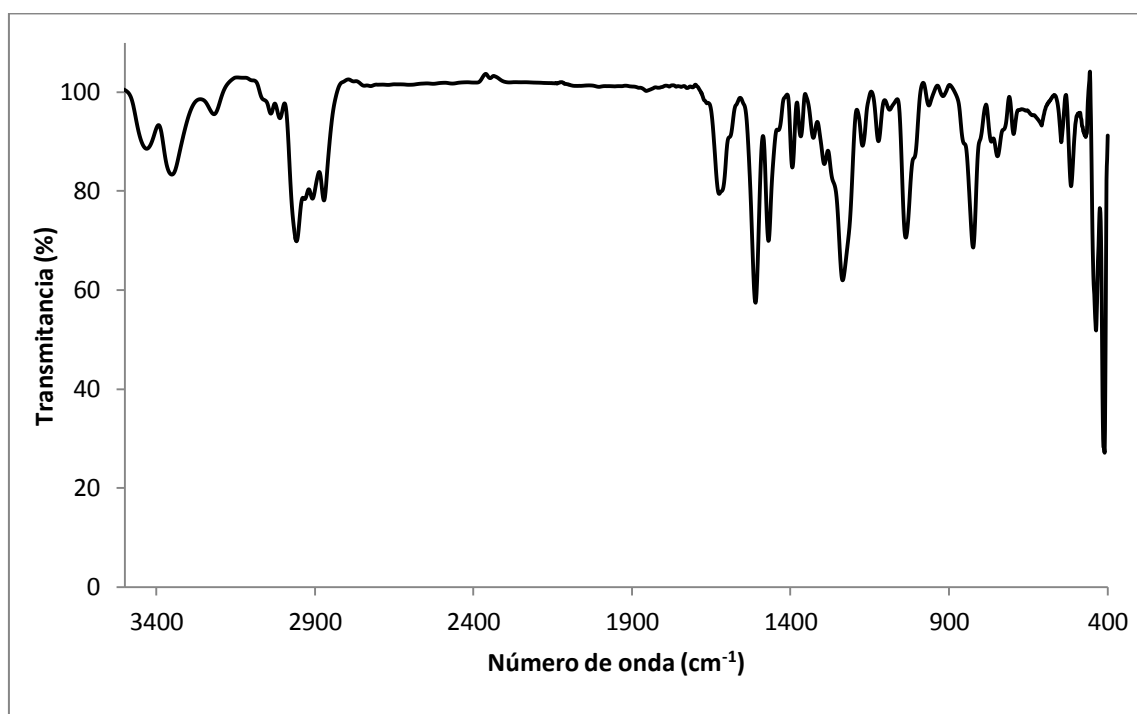


Fig. B.2.1 Espectro de FTIR (KBr)

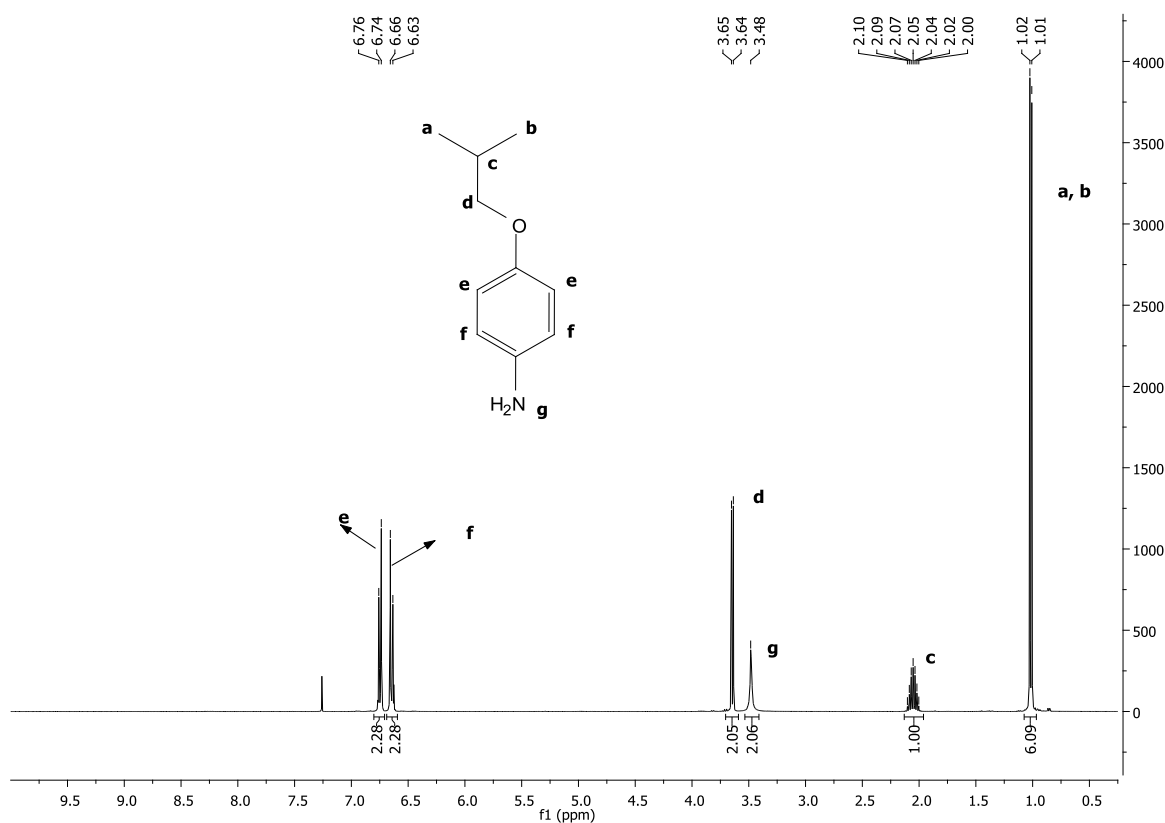


Fig. B.1.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)

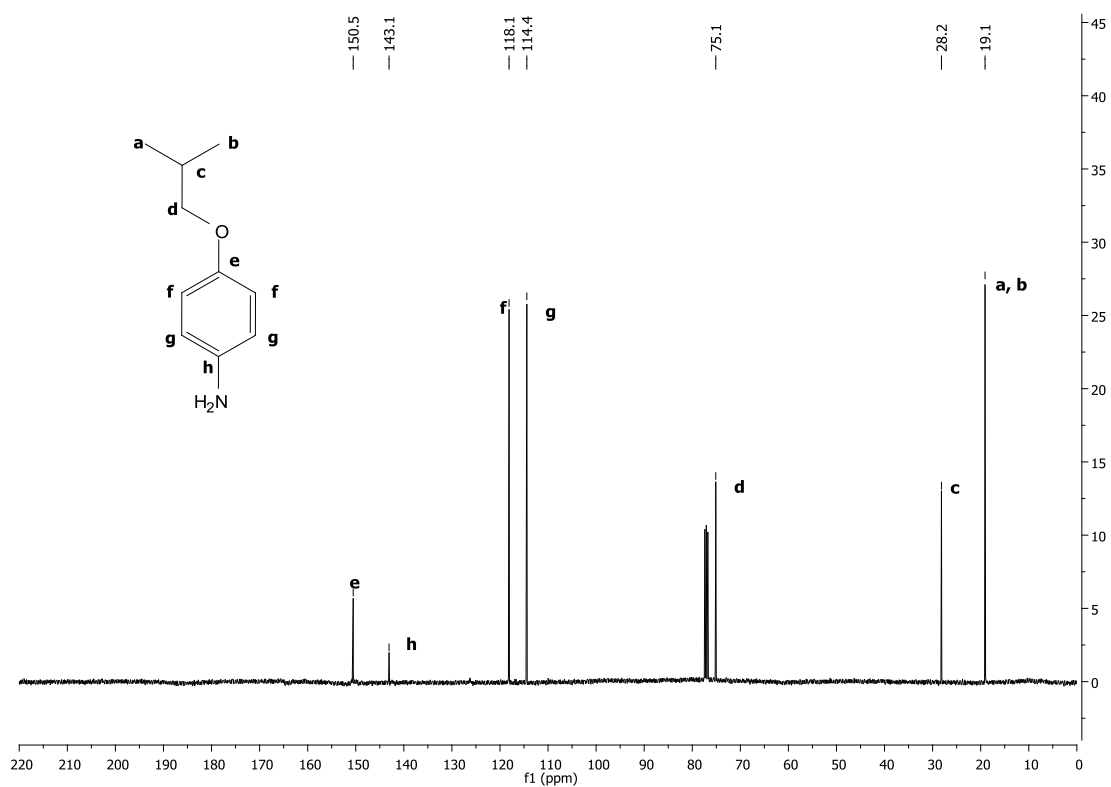


Fig. B.1.3 Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz)  $\delta$  (ppm)

B.3. Compuesto 3, ver Figura 3.2:

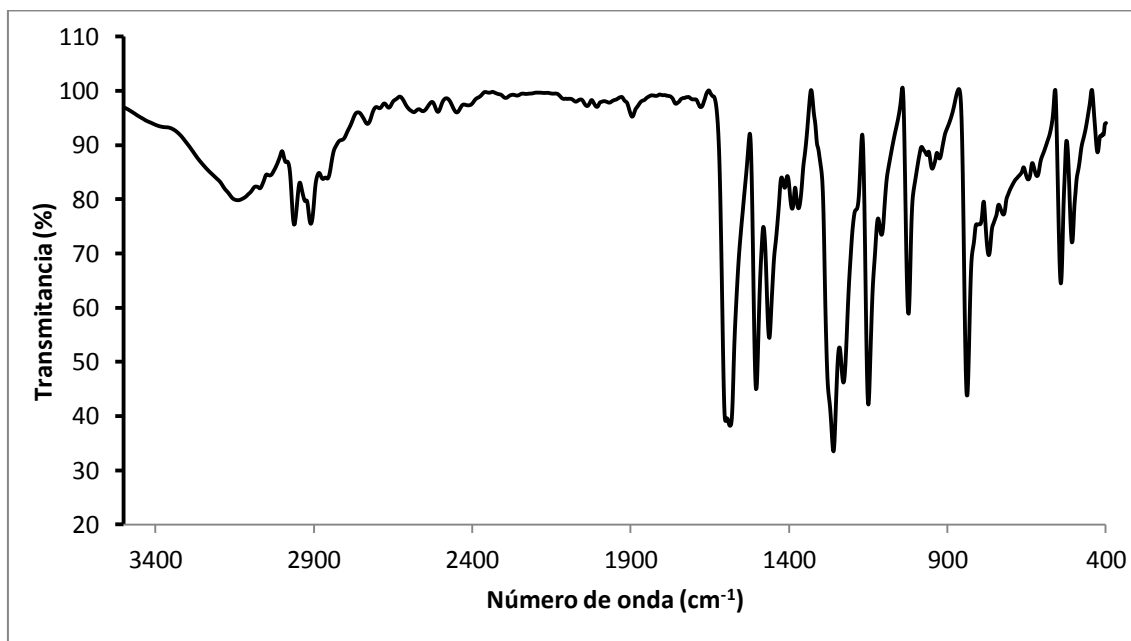


Fig. B.3.1 Espectro de FTIR (KBr)

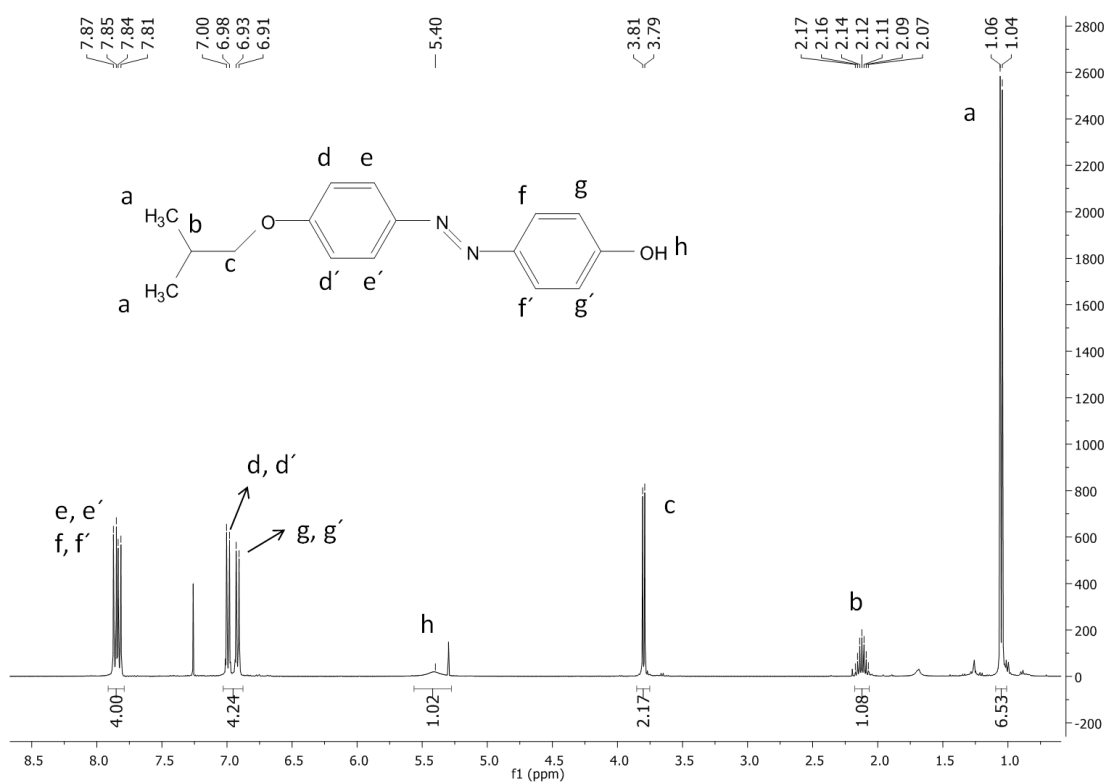


Fig. B.3.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)

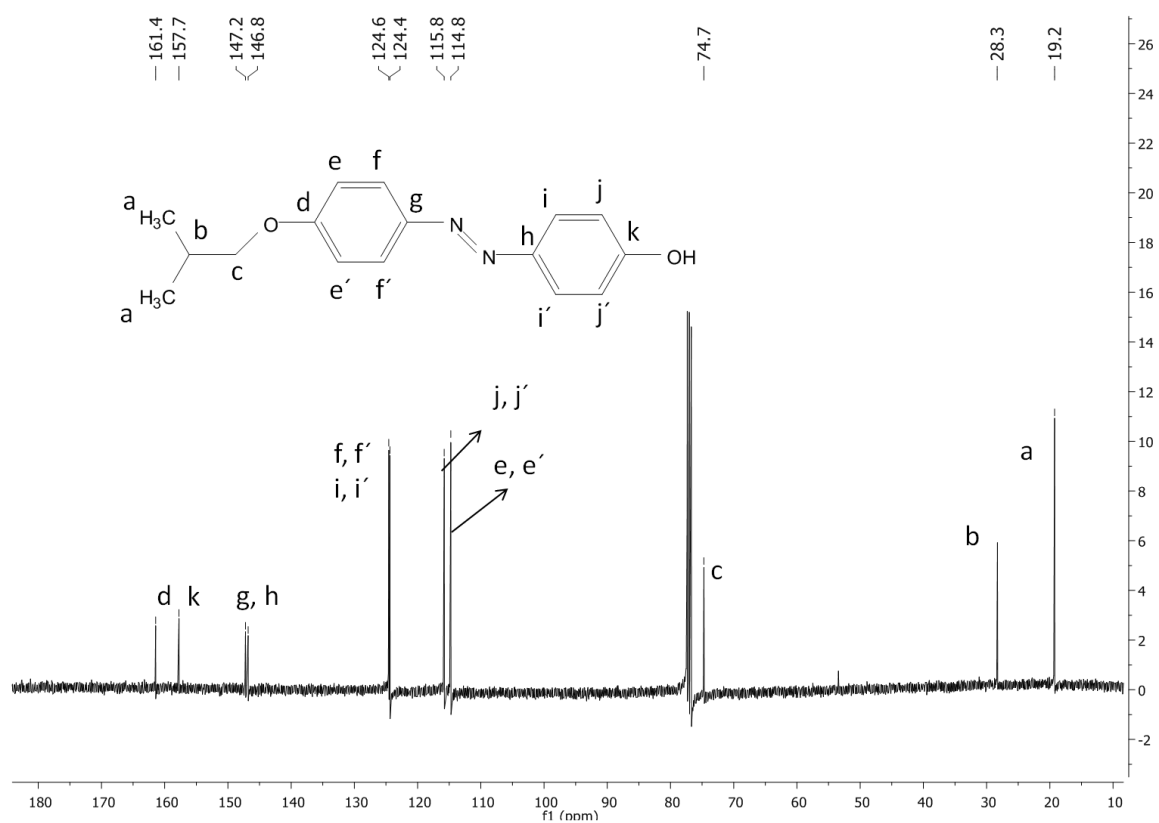


Fig. B.3.3 Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm)

B.4. Compuesto 4, ver Figura 3.2:

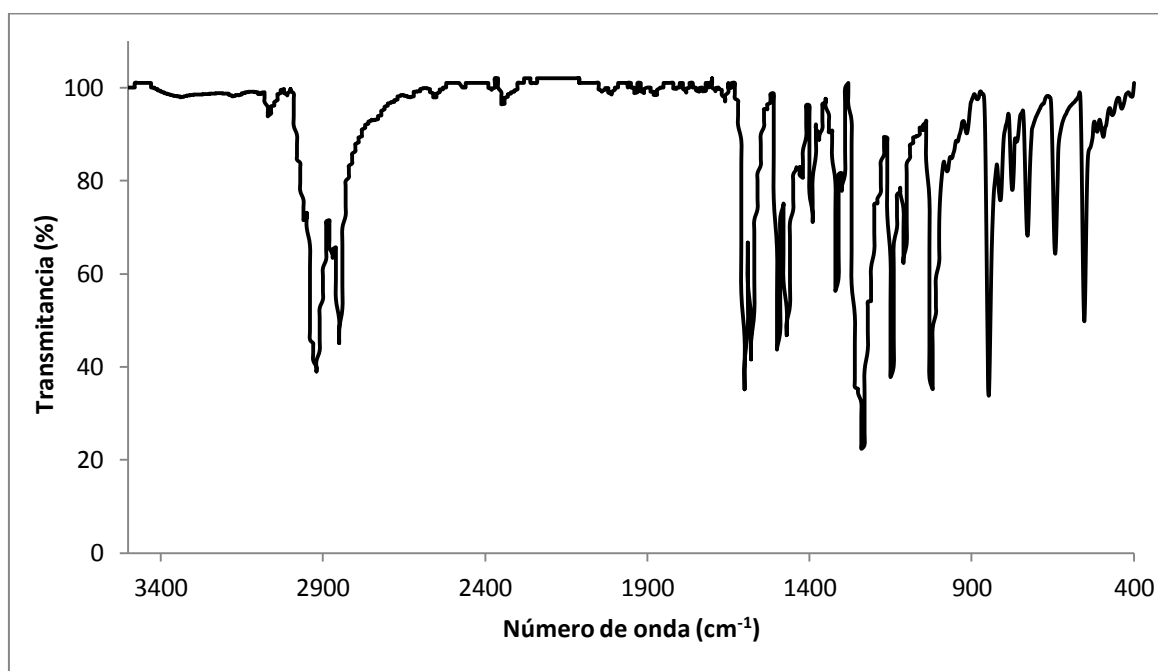


Fig. B.4.1 Espectro de FTIR (KBr)

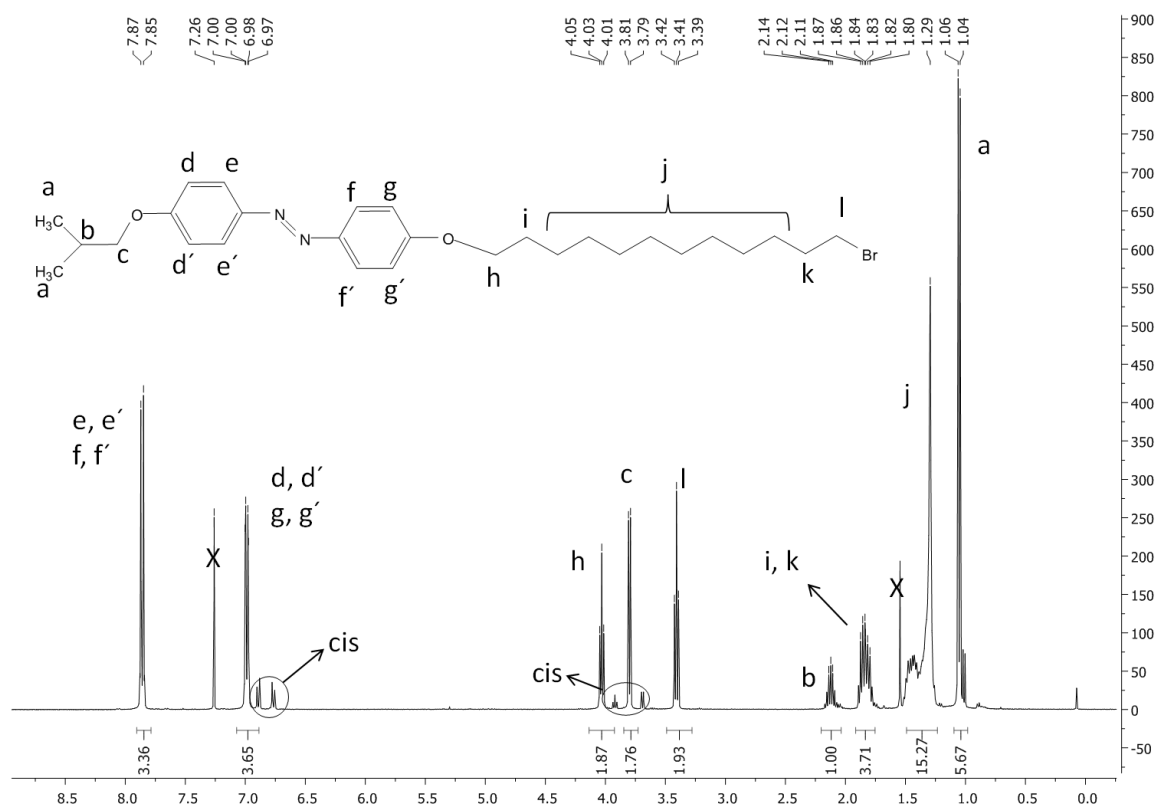


Fig. B.4.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)

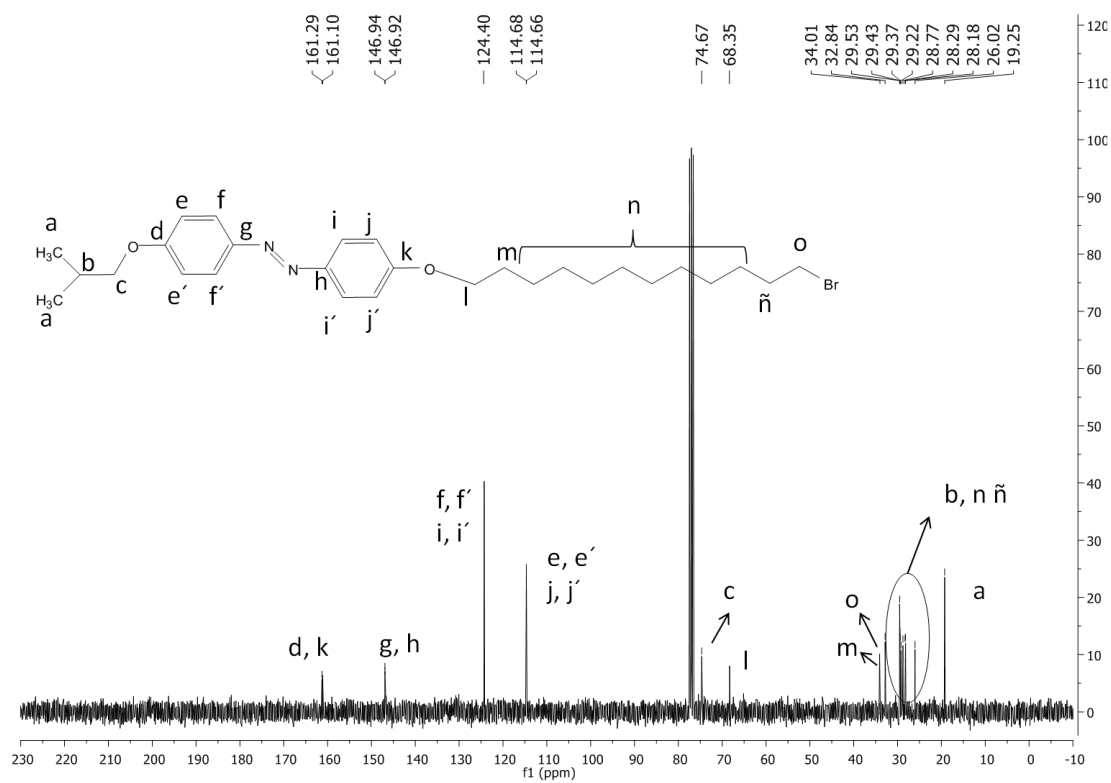


Fig. B.4.3 Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm)



B.5. Compuesto 5 (tAZO-i):

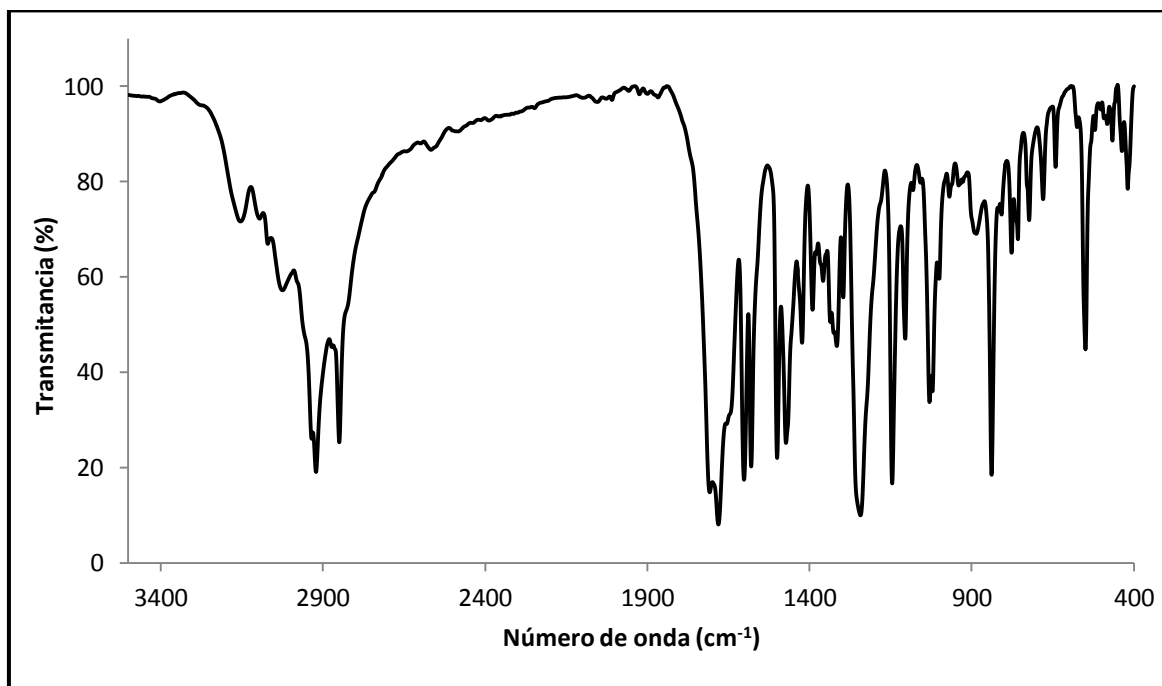


Fig. B.5.1 Espectro de FTIR (KBr)

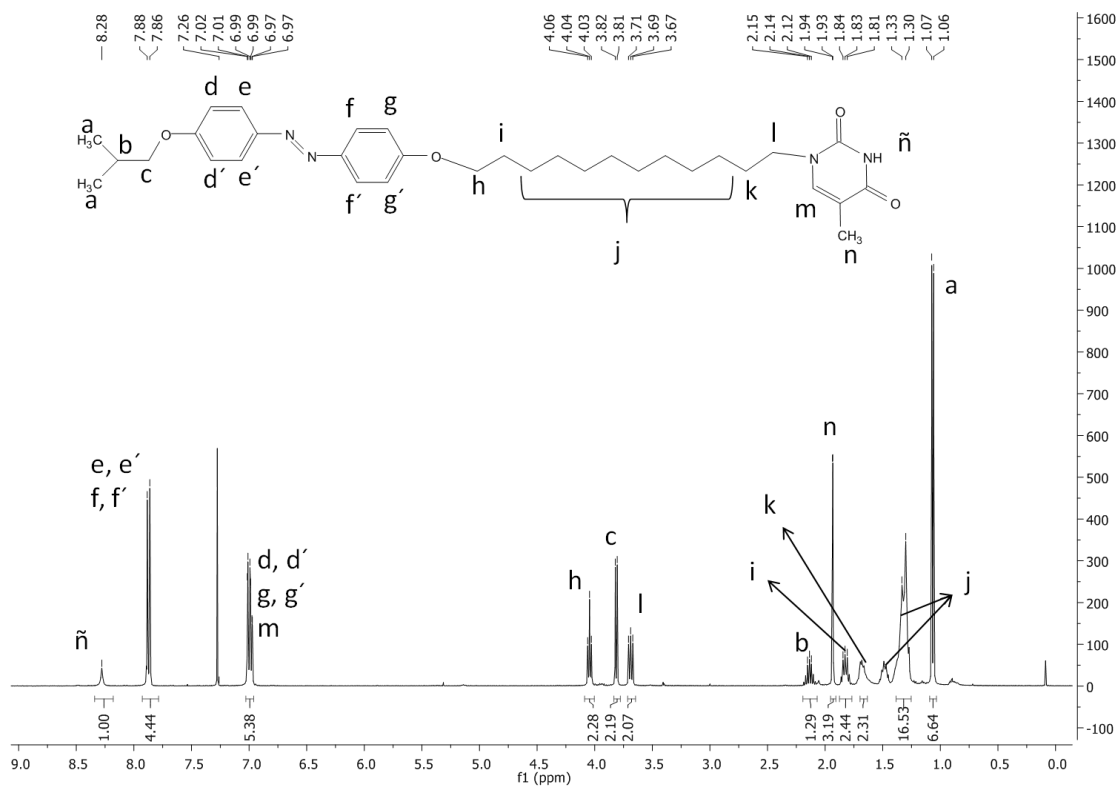


Fig. B.5.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)

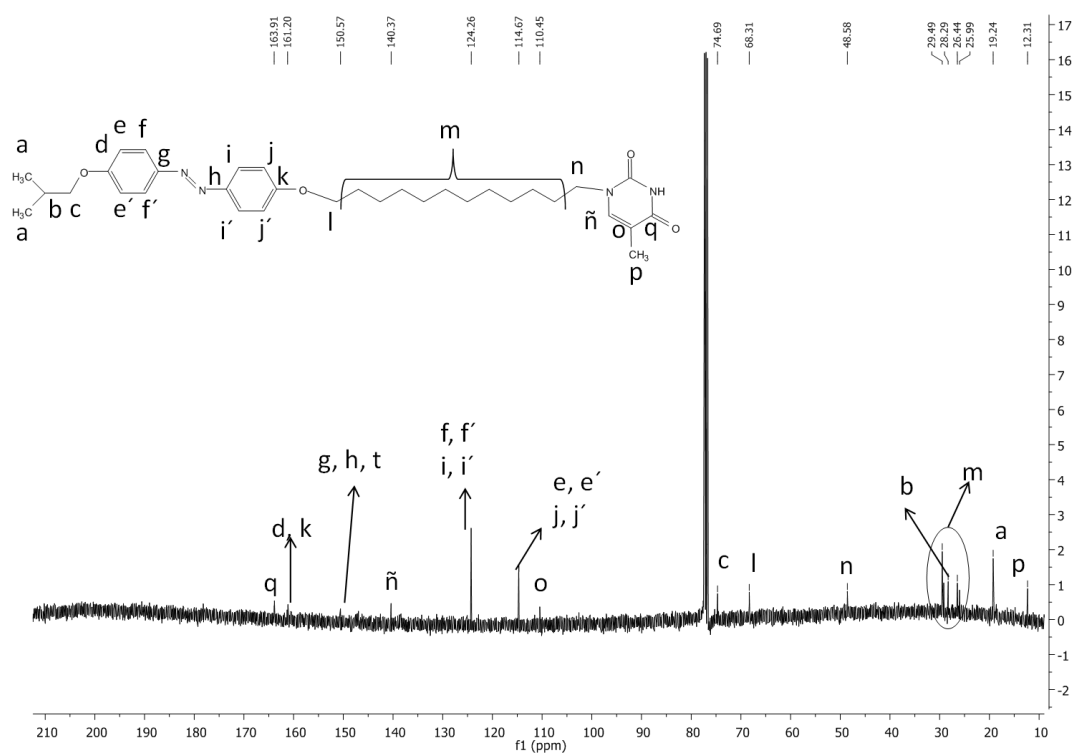


Fig. B.5.3 Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm)

C.  $\text{tC}_{20}$ :

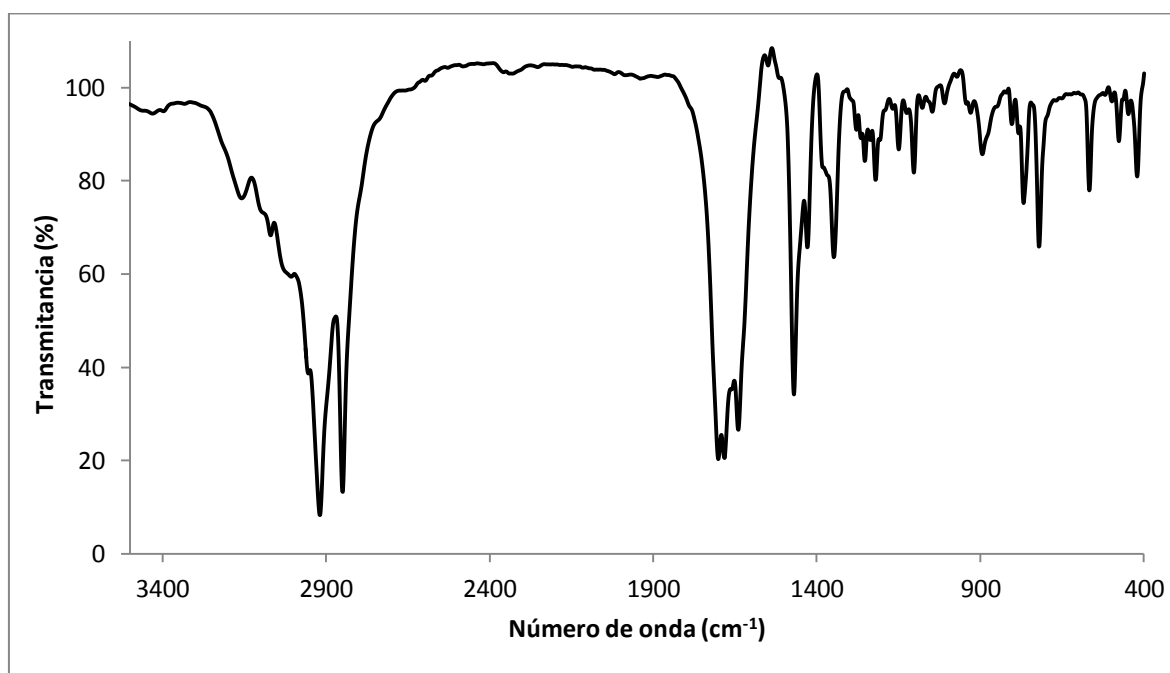


Fig. C.1 Espectro de FTIR (KBr)

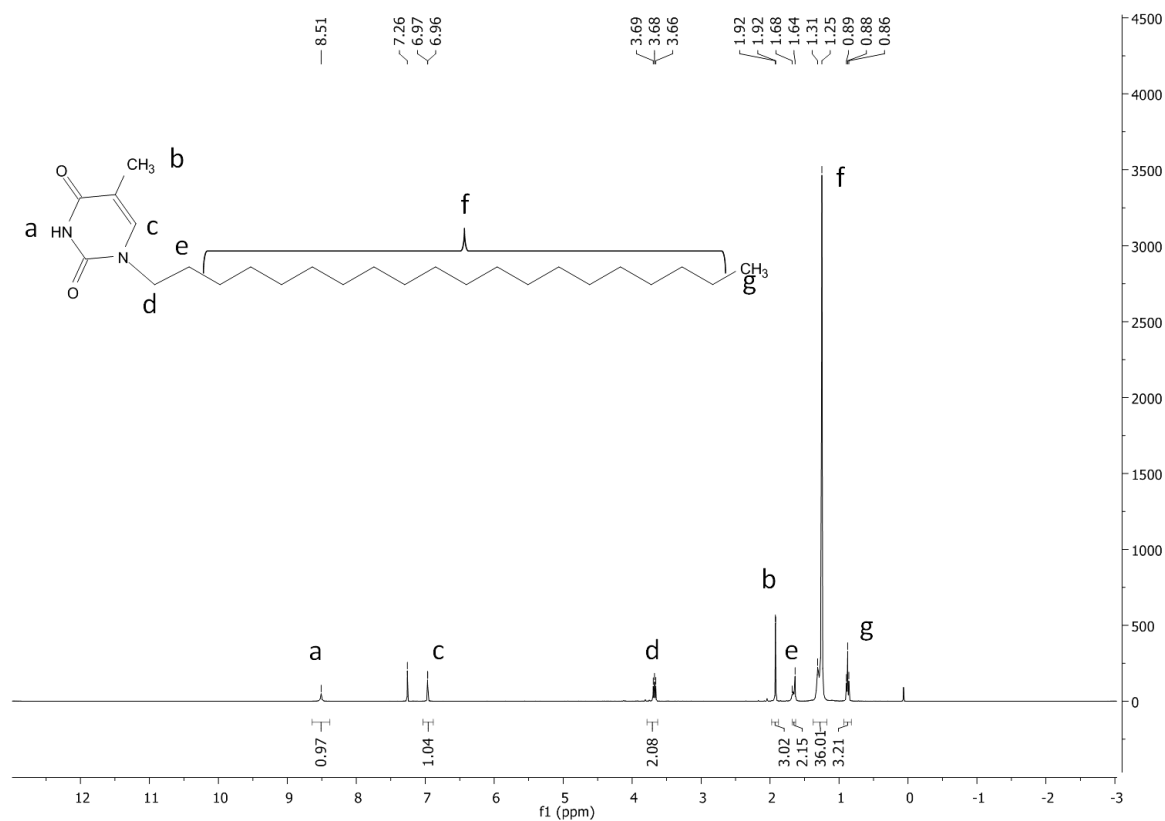


Fig. C.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)

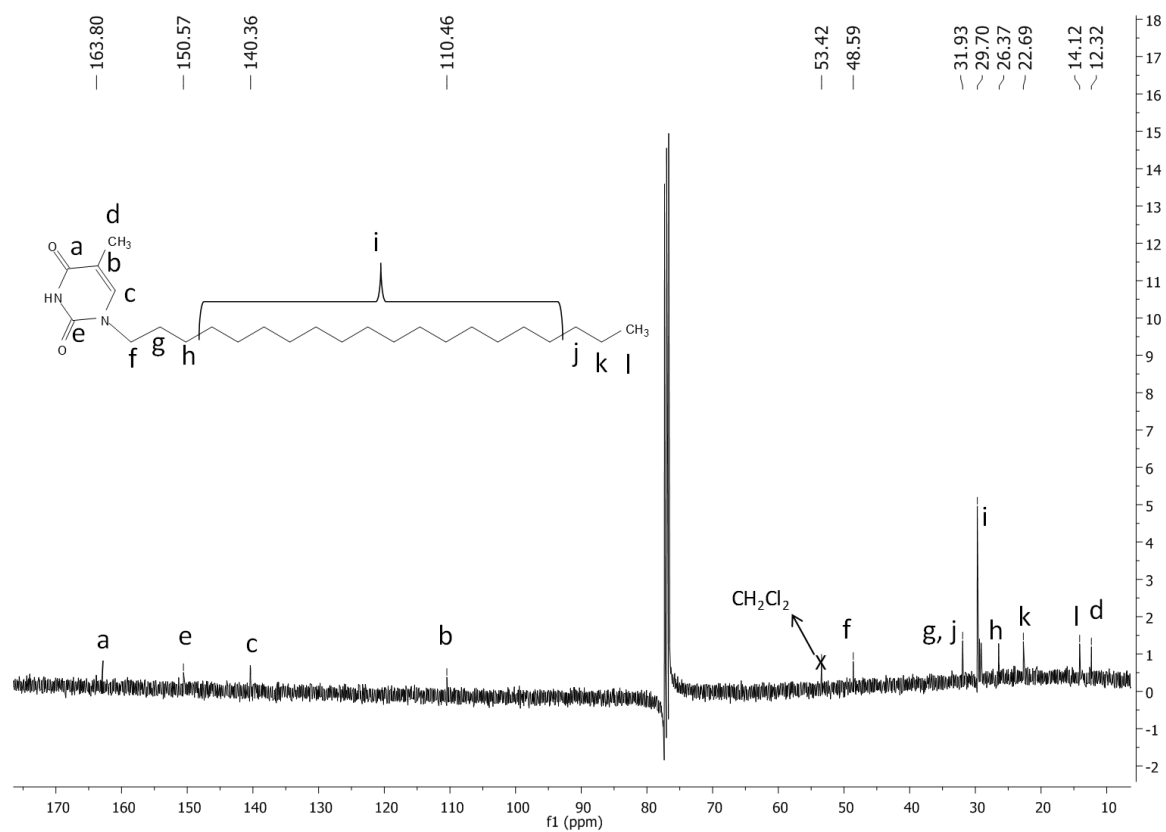


Fig. C.3 Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)  $\delta$  (ppm)

D. PEG-b-PDAP:

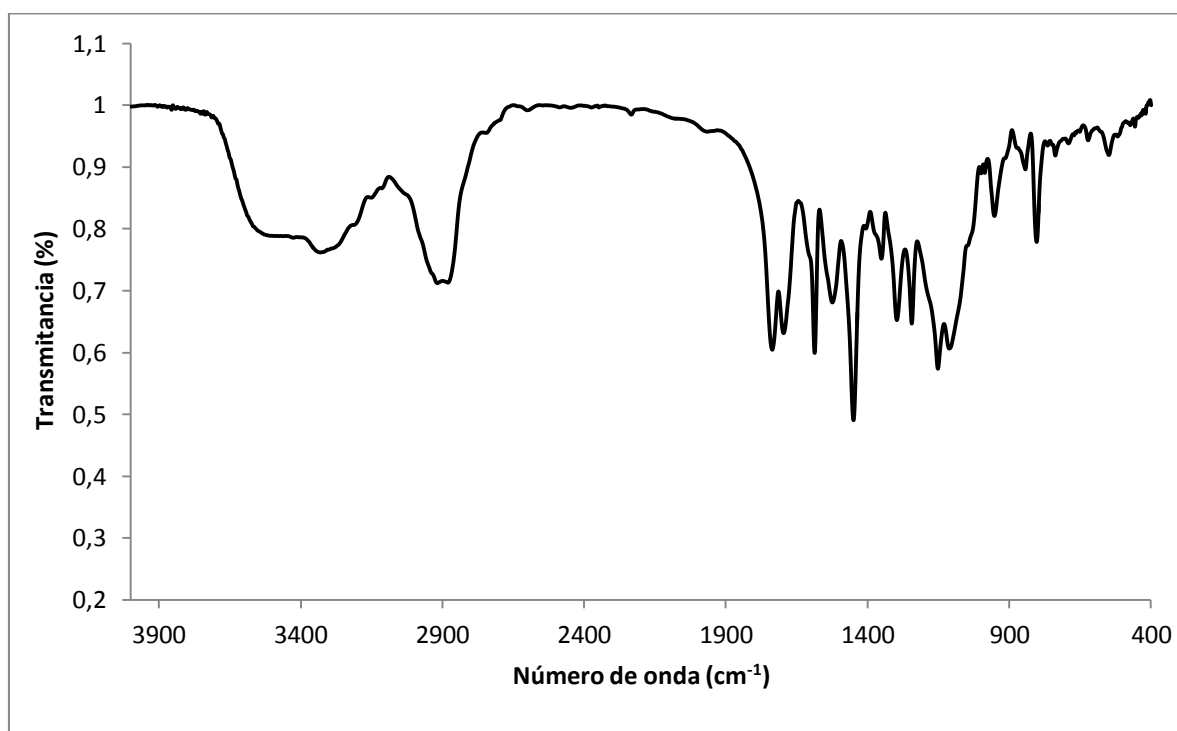


Fig. D.1 Espectro de FTIR (KBr)

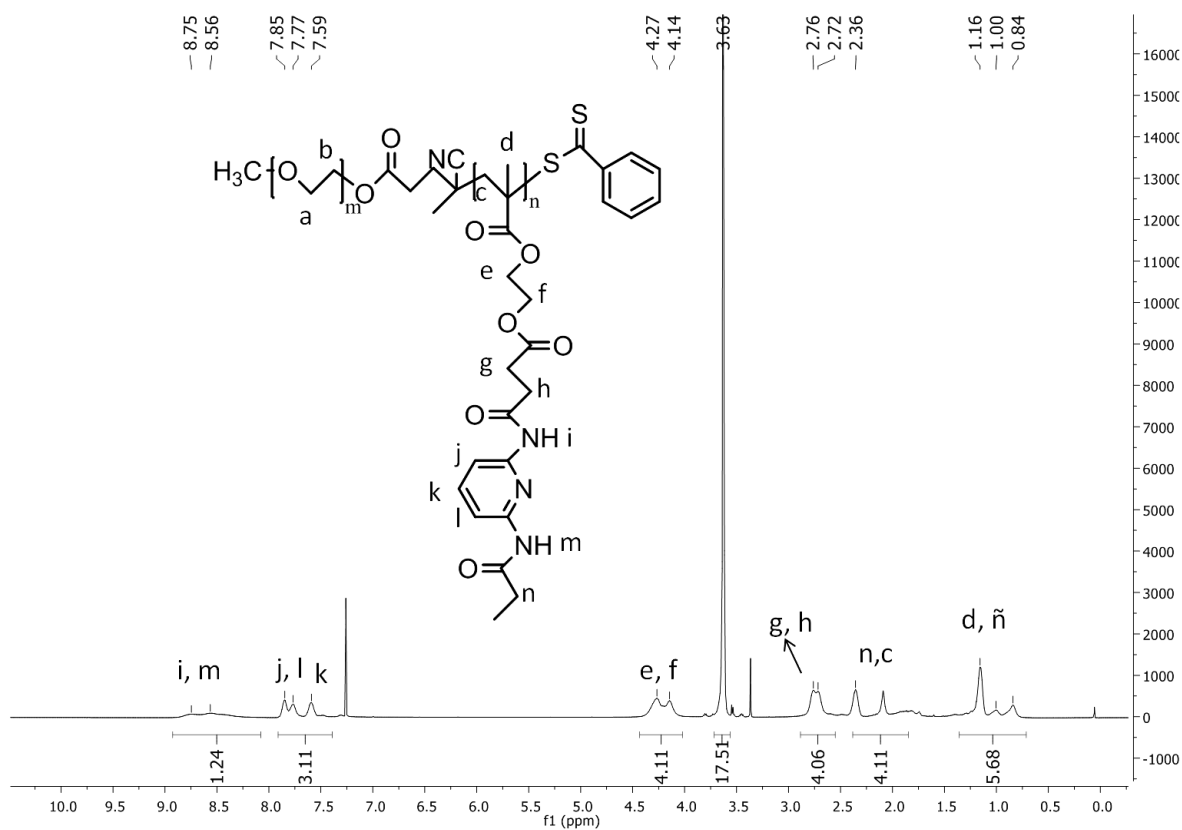
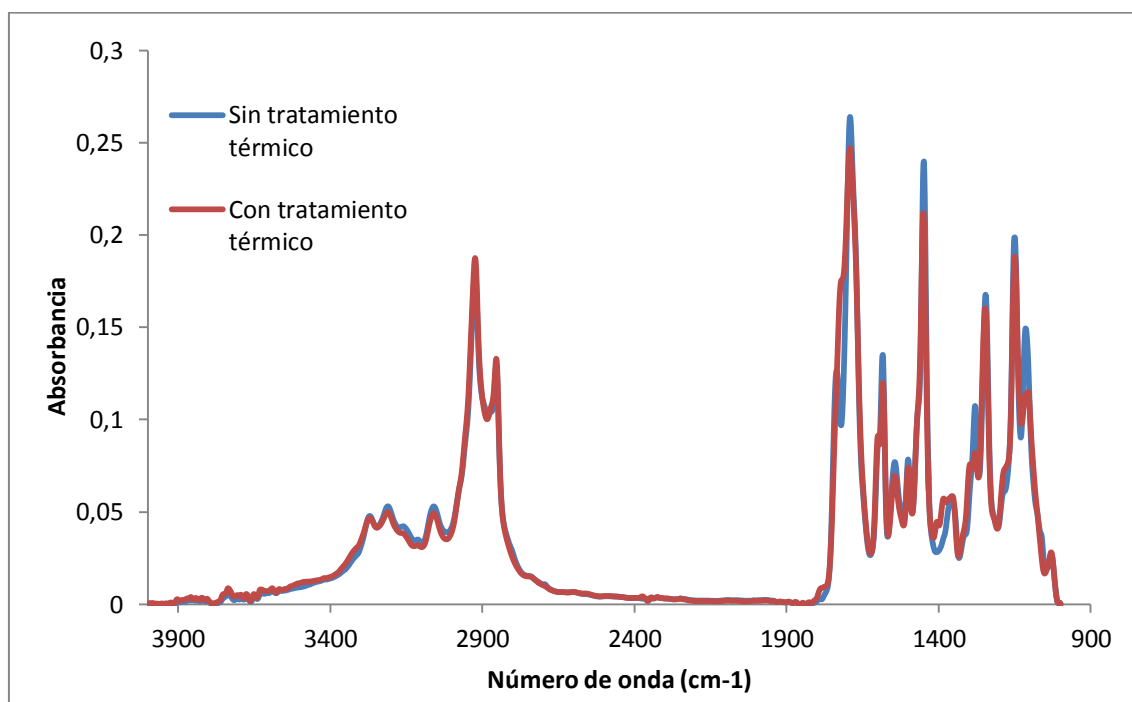
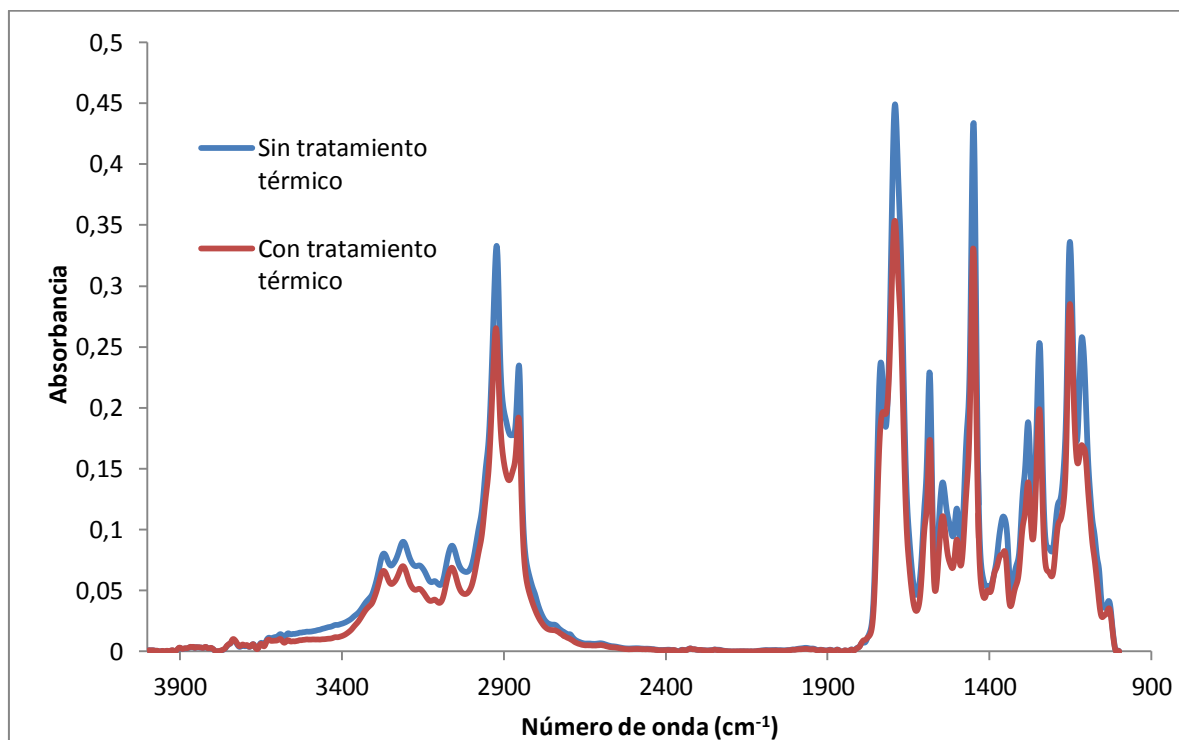


Fig. D.2 Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)  $\delta$  (ppm)

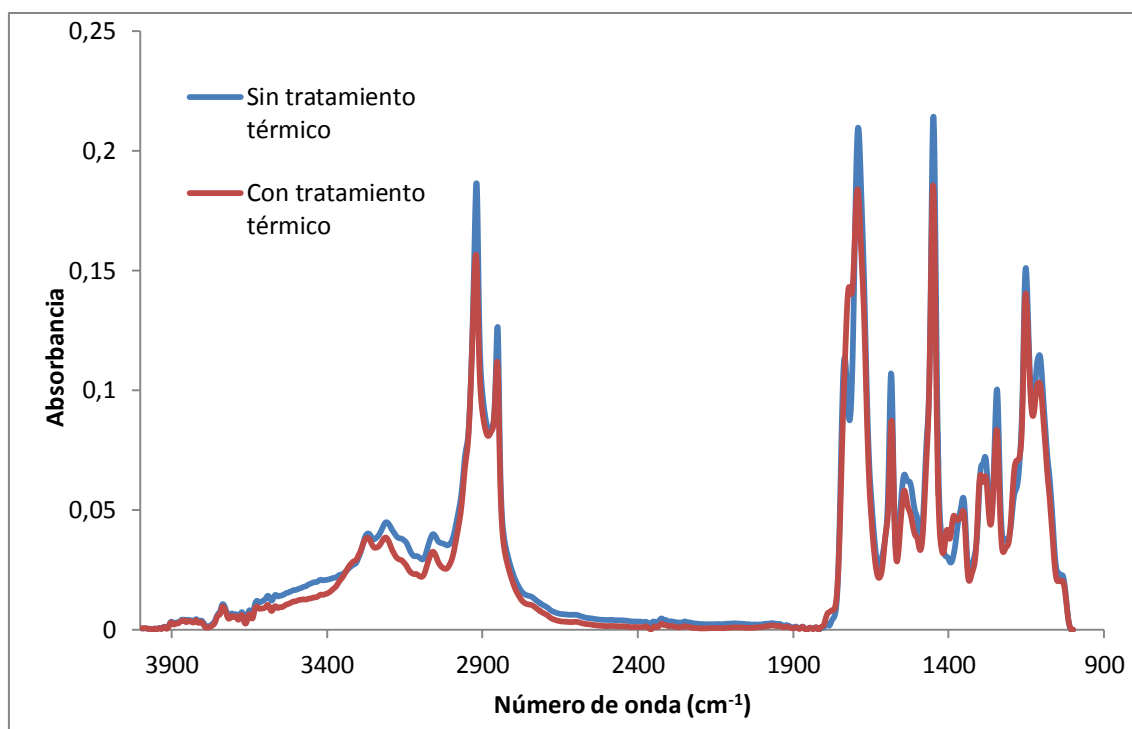
## 2. Estudio enlaces de Hidrógeno (FTIR).



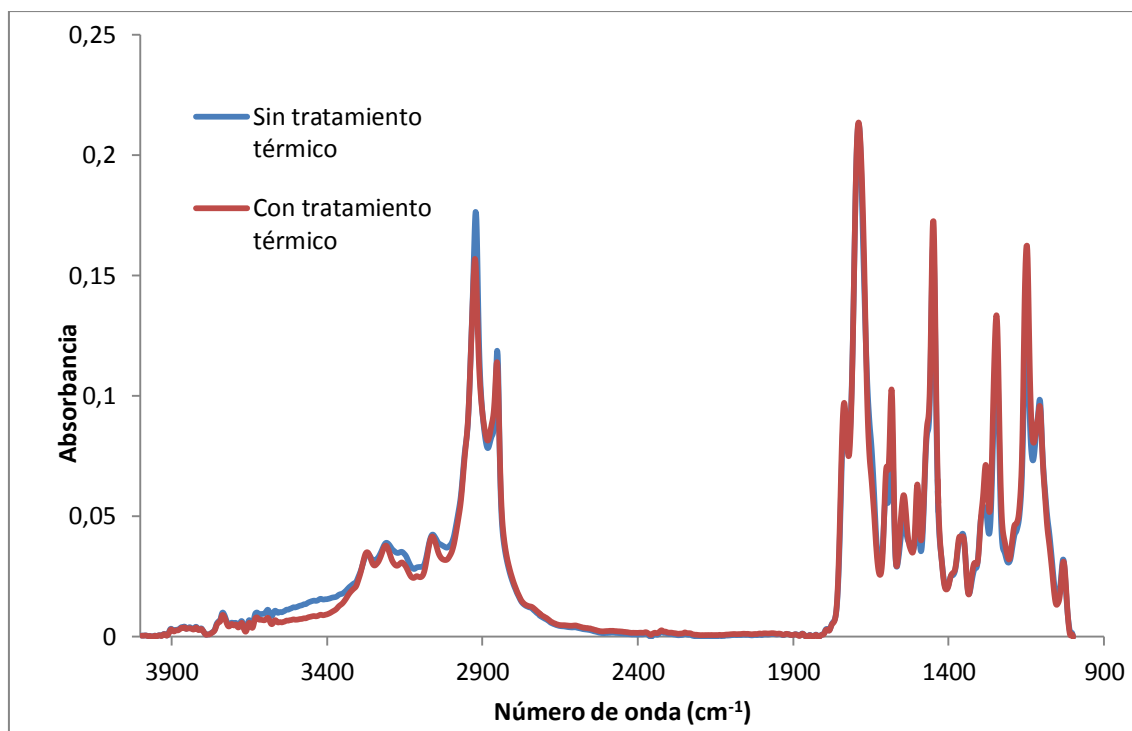
**Fig. 2.1** Espectro de FTIR de  $\text{PEG}_{10000}\text{-b-PDAP}\cdot\text{tAZO-i/tC}_{20}$  (75/25).



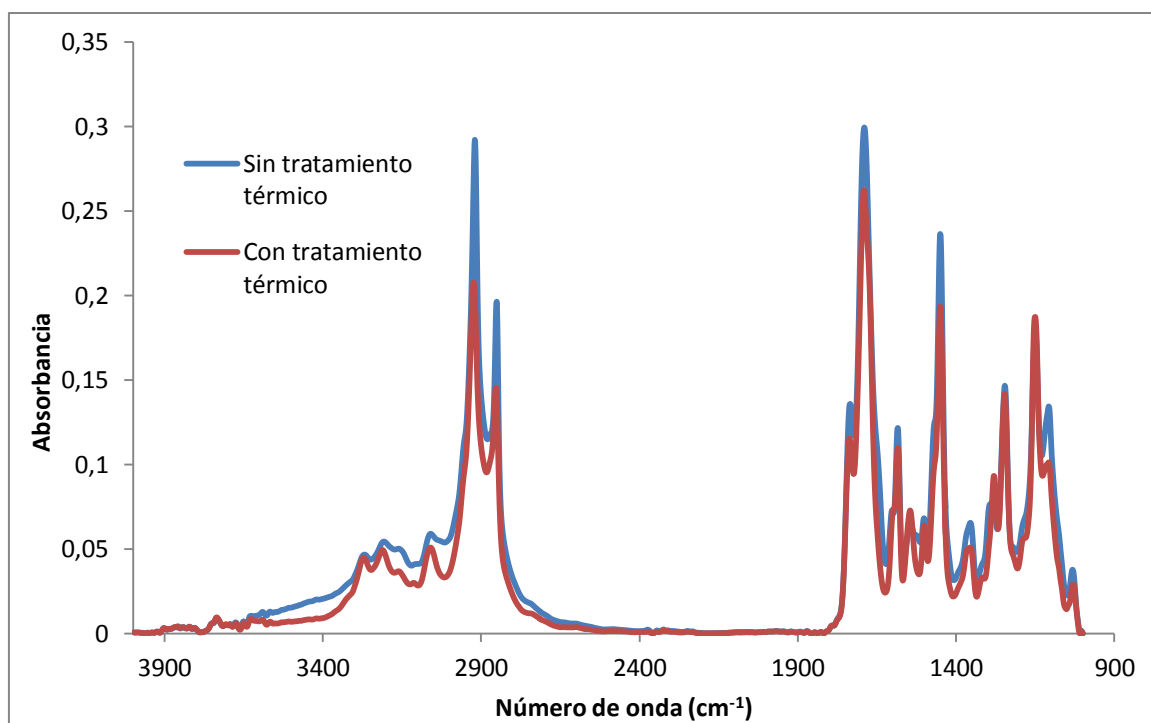
**Fig. 2.2** Espectro de FTIR de  $\text{PEG}_{10000}\text{-b-PDAP}\cdot\text{tAZO-i/tC}_{20}$  (50/50).



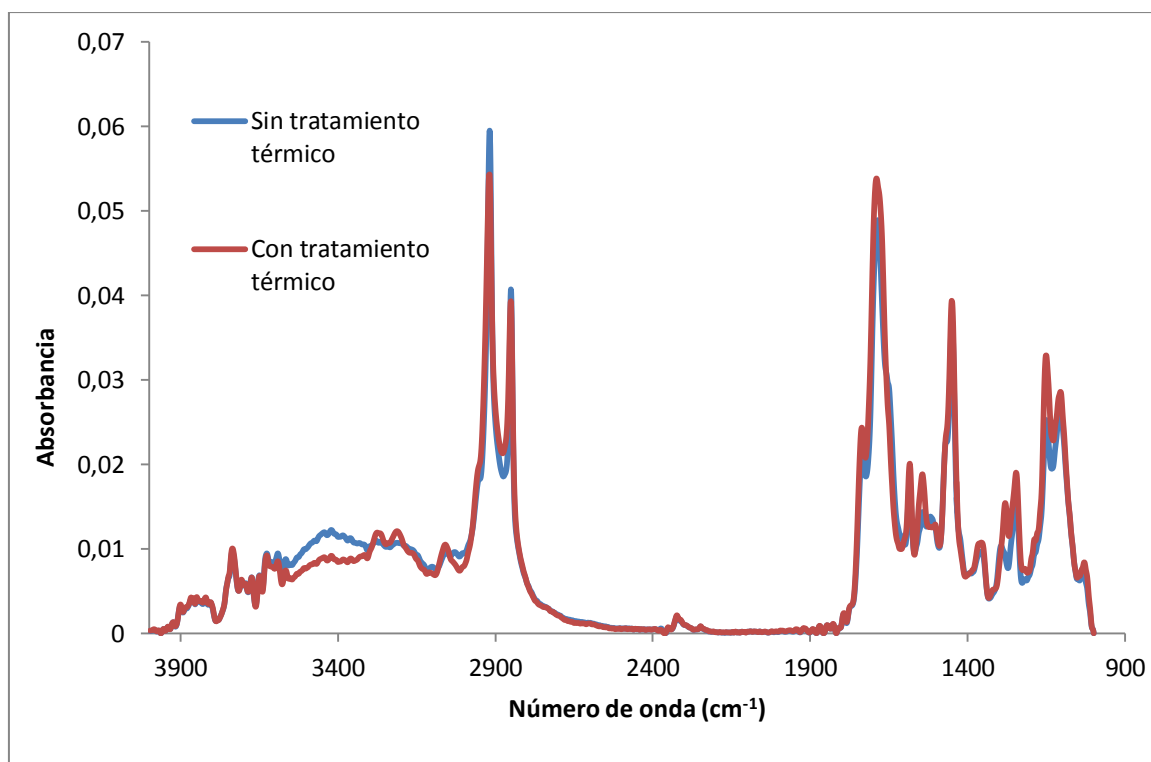
**Fig. 2.3 Espectro de FTIR de  $PEG_{10000}$ -b-PDAP•tAZO-i/tC<sub>20</sub> (25/75).**



**Fig. 2.4 Espectro de FTIR de  $PEG_{2000}$ -b-PDAP•tAZO-i/tC<sub>20</sub> (75/25).**



**Fig. 2.5** Espectro de FTIR de PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP•tAZO-i/tC<sub>20</sub> (50/50).



**Fig. 2.6** Espectro de FTIR de PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP•tAZO-i/tC<sub>20</sub> (25/75).



### 3. Termogravimetría (TGA, DTGA).

#### A. Monómero DAP:

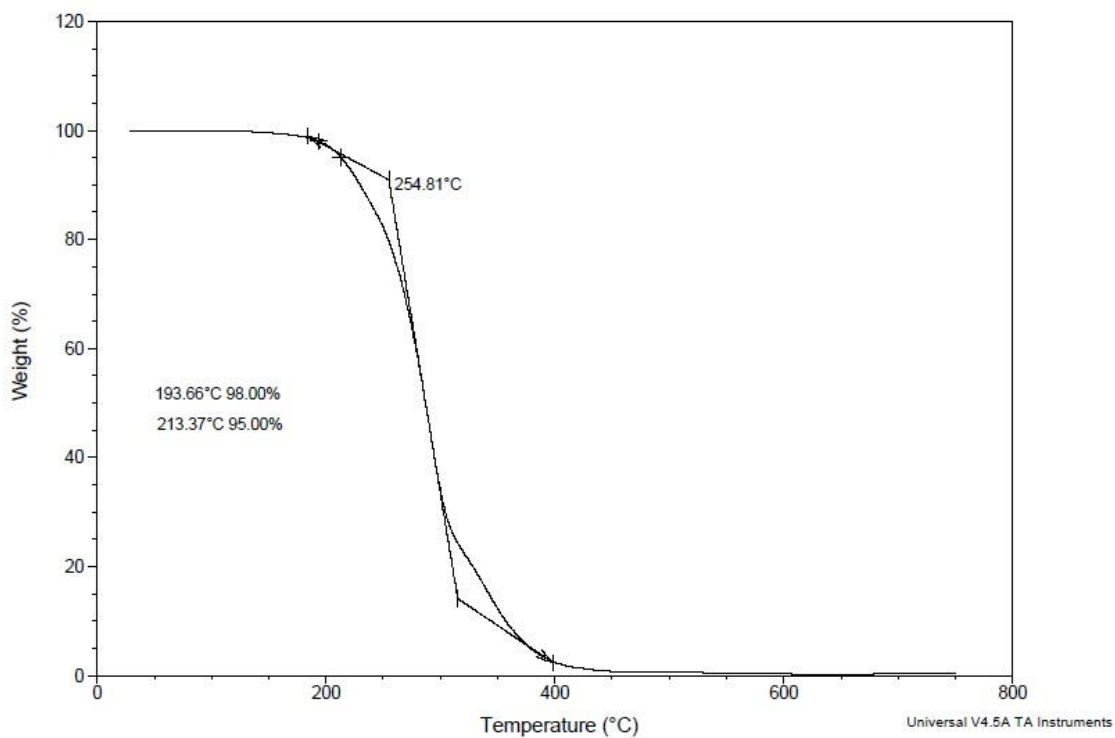


Fig. A.1 Curva TGA.

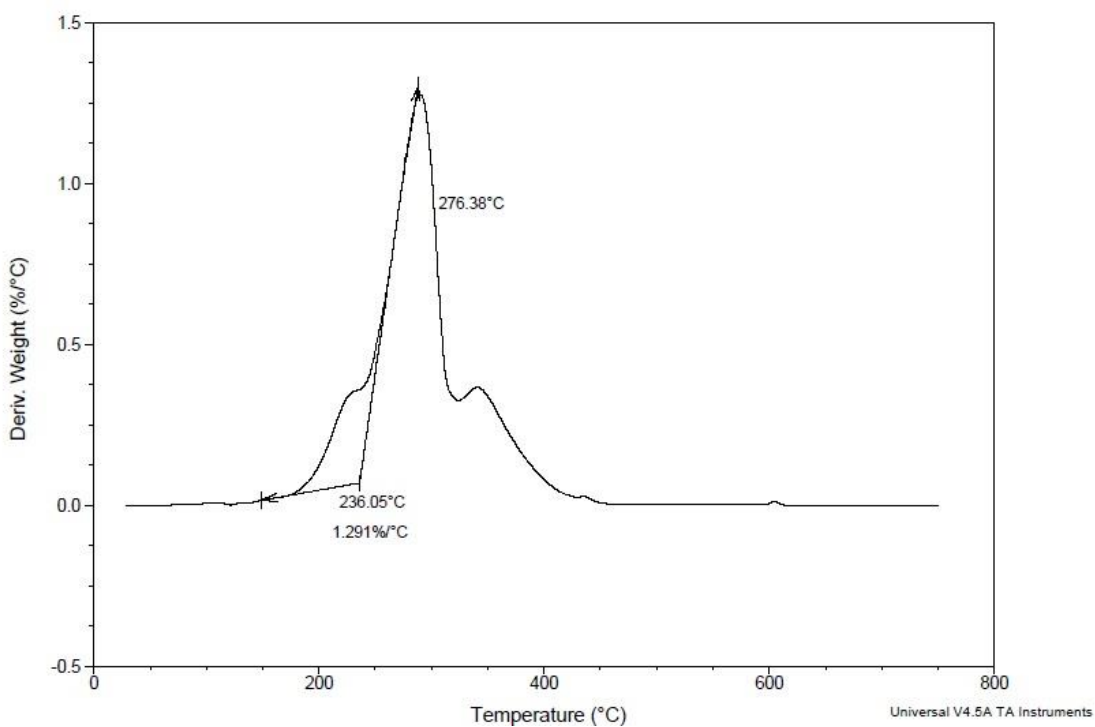
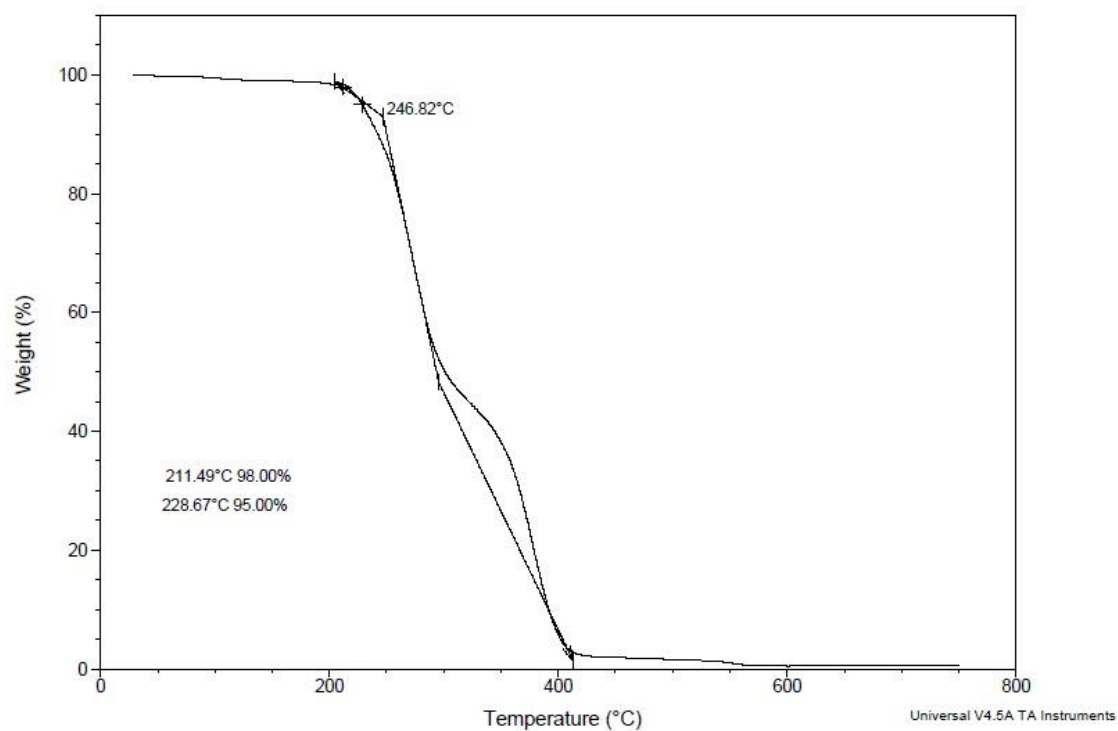
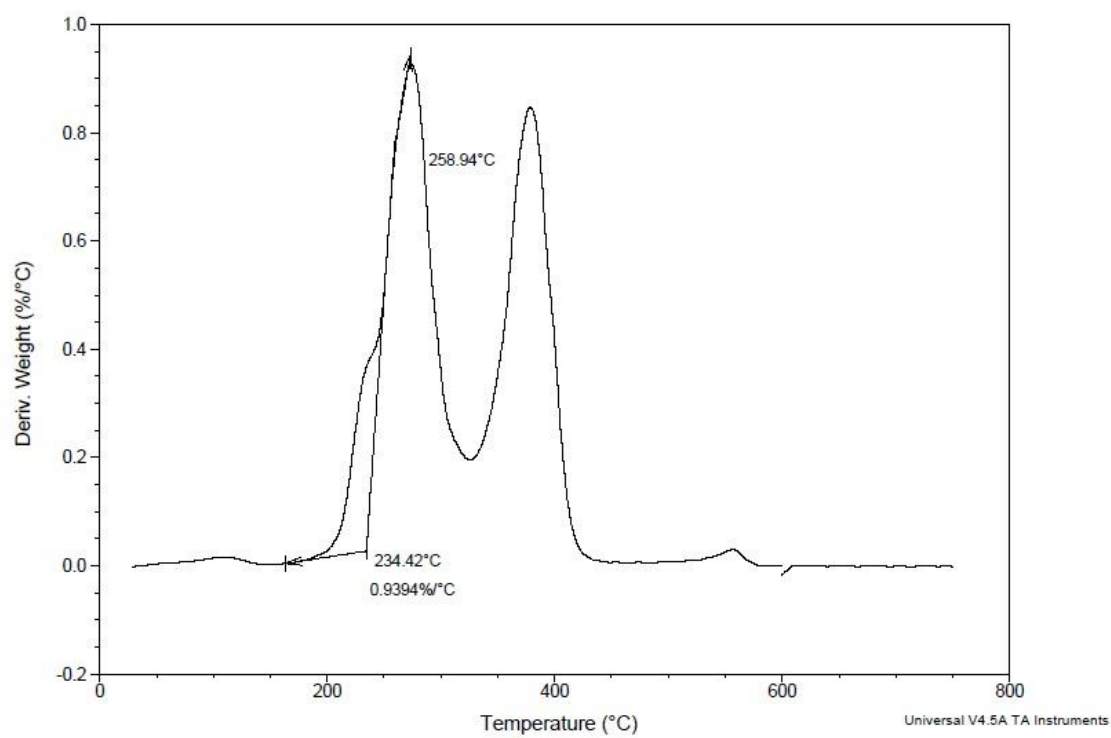


Fig. A.2 Curva DTGA.

**B. Polímero PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP**



**Fig. B.1 Curva TGA.**



**Fig. B.2 Curva DTGA.**

C. Tc<sub>20</sub>

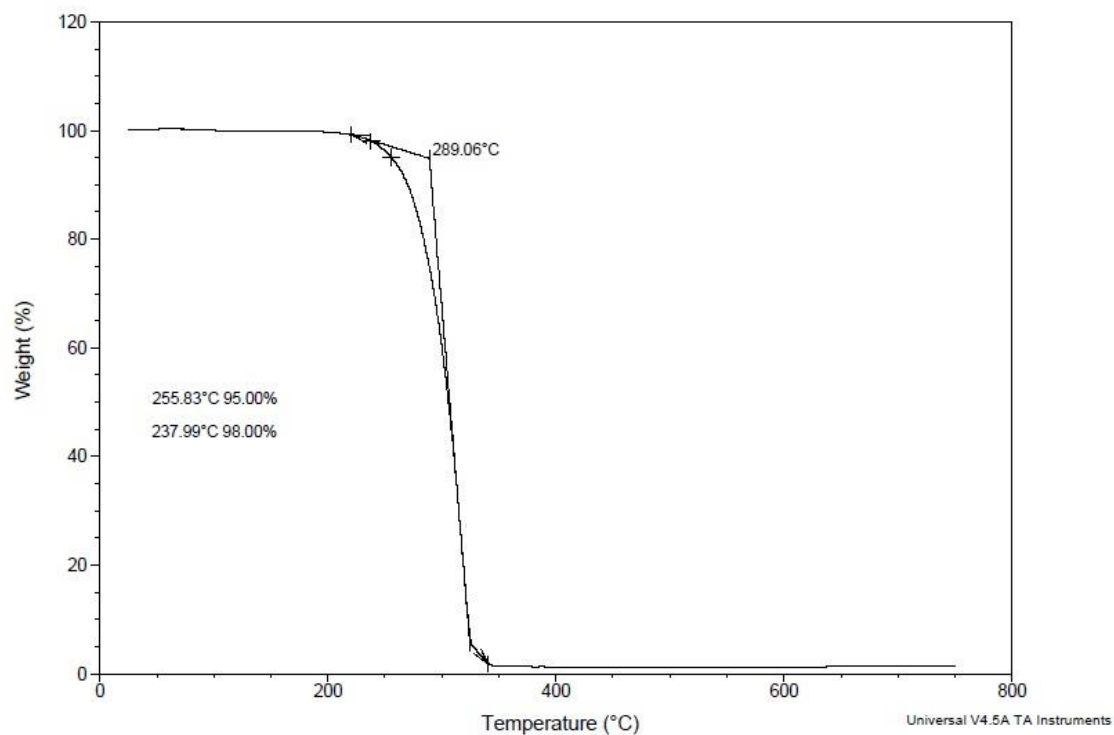


Fig. C.1 Curva TGA.

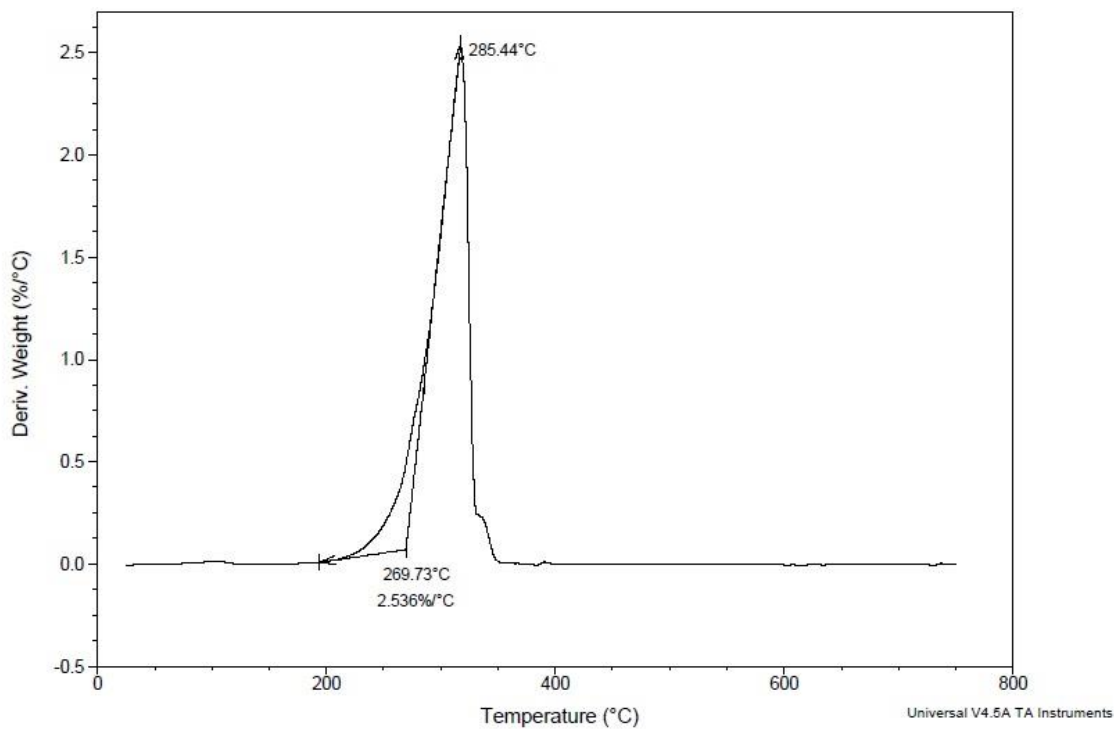


Fig. C.2 Curva DTGA.

D. tAZO-i

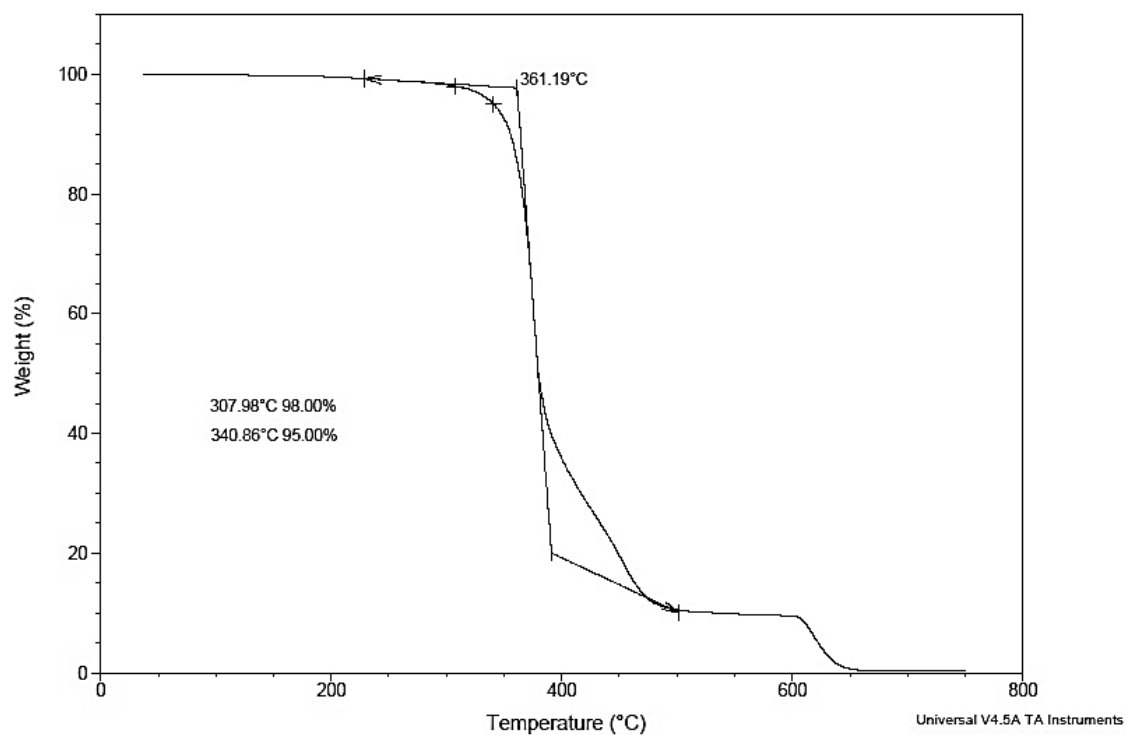


Fig. D.1 Curva TGA.

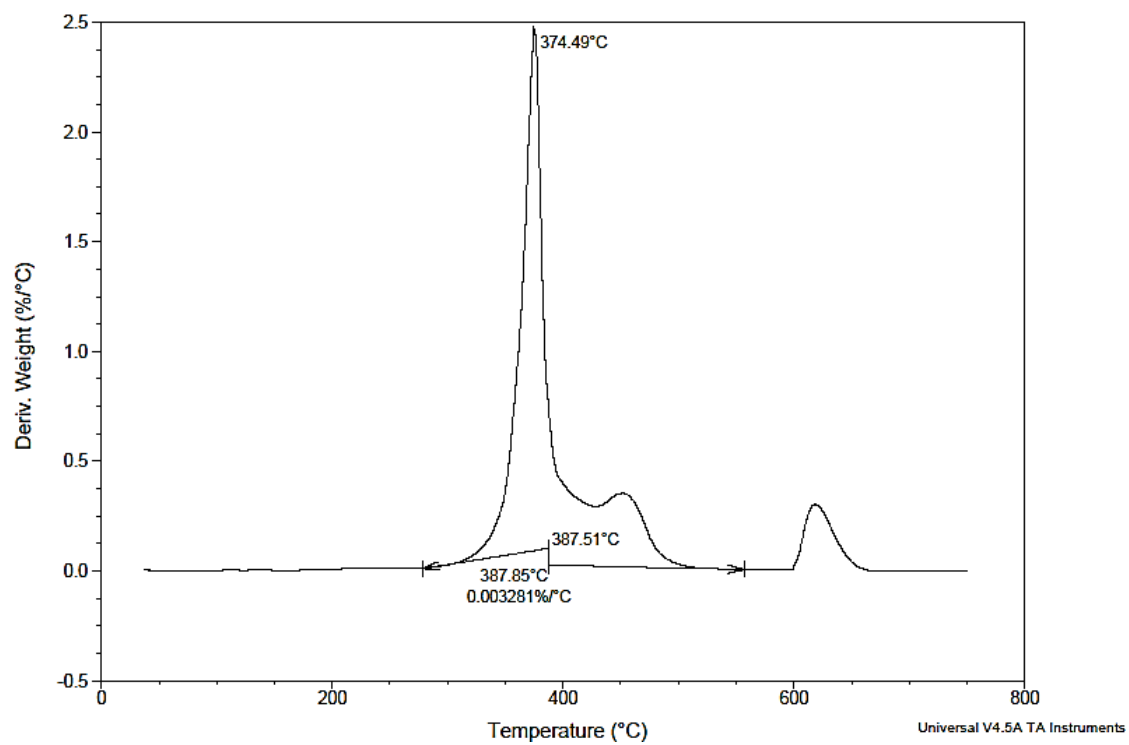


Fig. D.2 Curva DTGA.

E. PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (75/25)

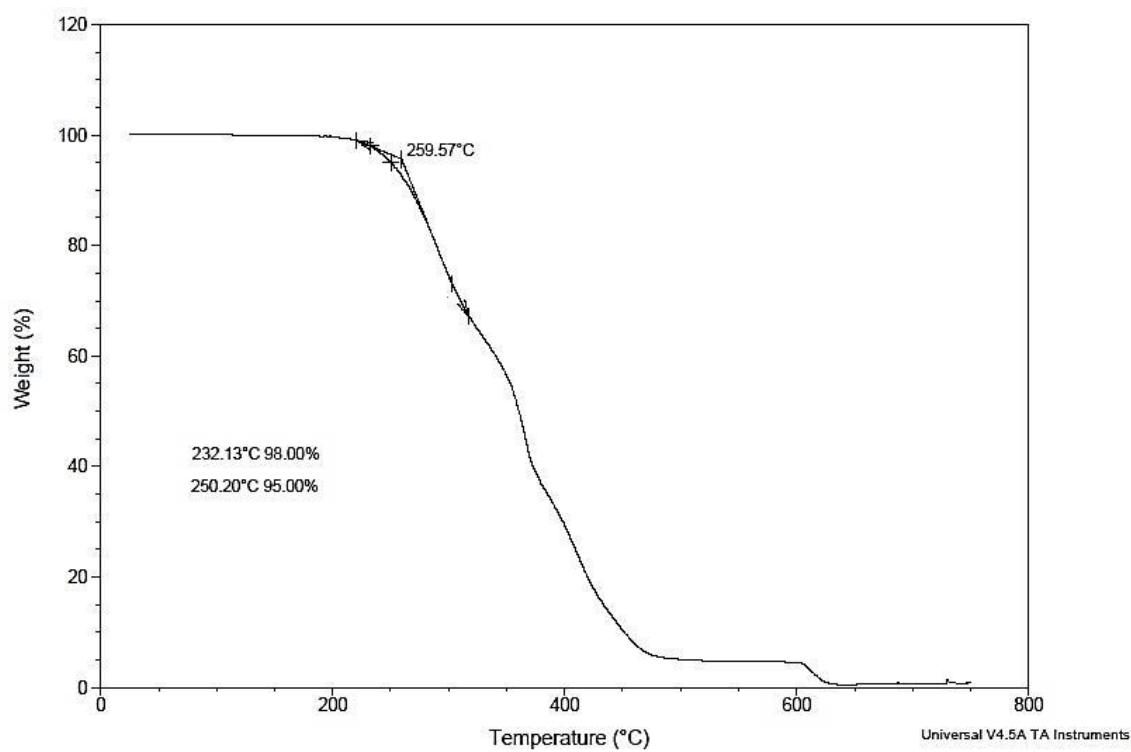


Fig. E.1 Curva TGA.

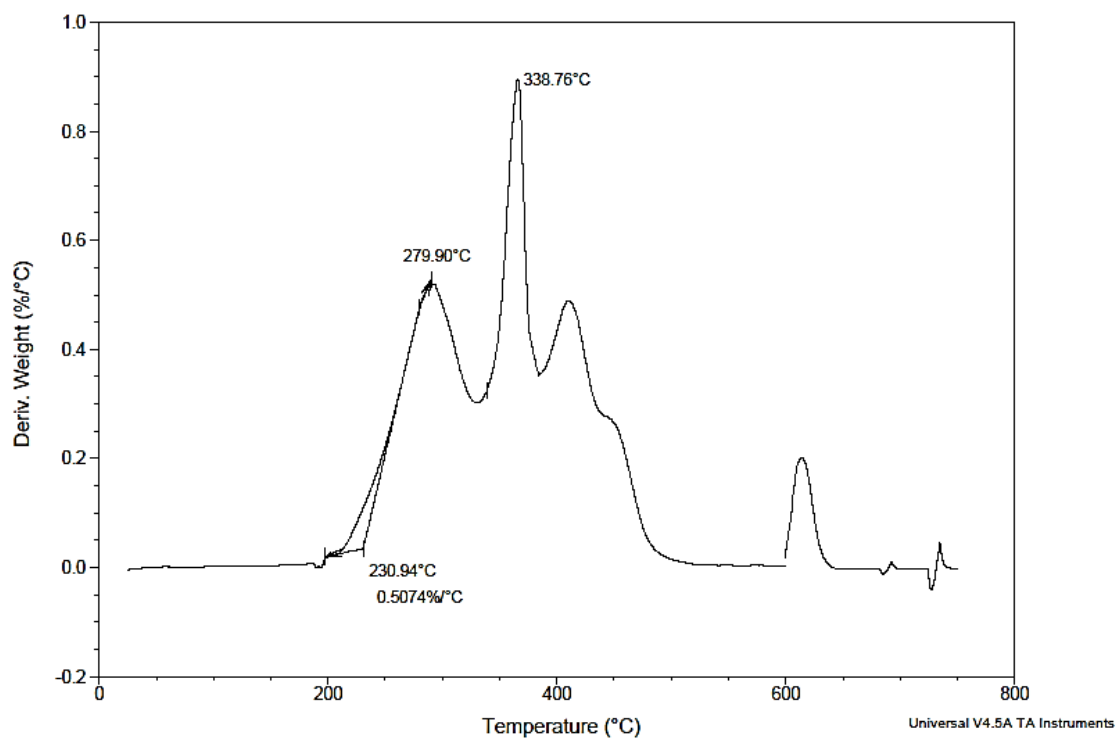


Fig. E.2 Curva DTGA.

F. PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (50/50)

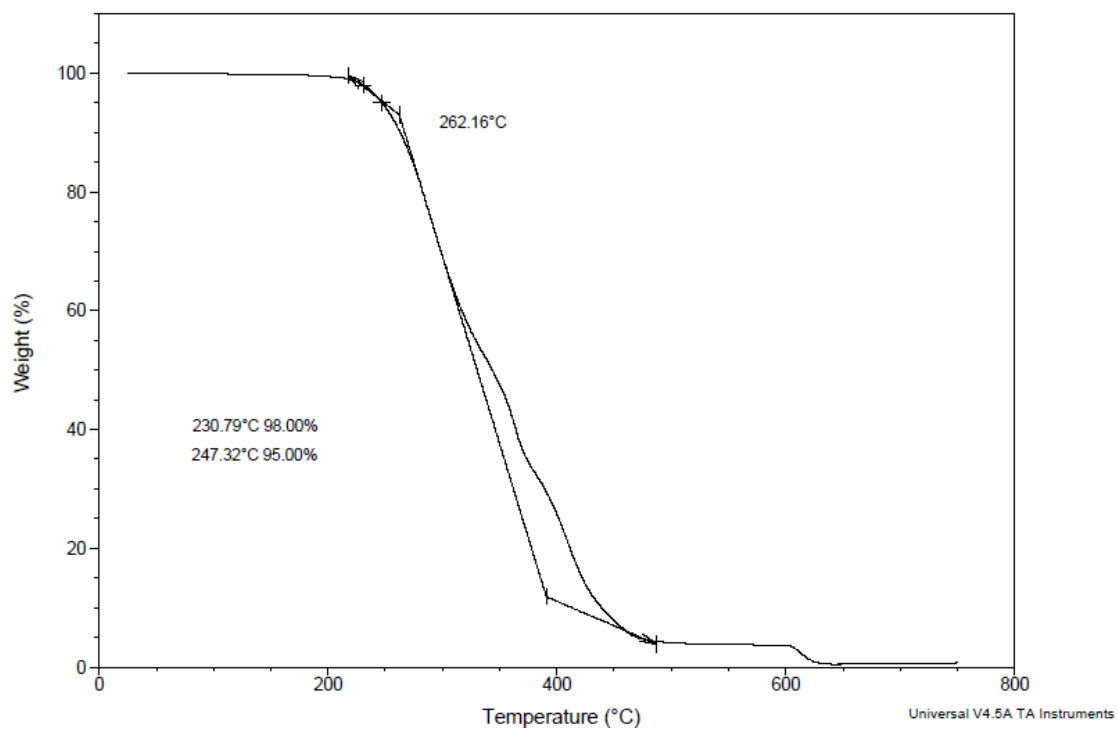


Fig. F.1 Curva TGA.

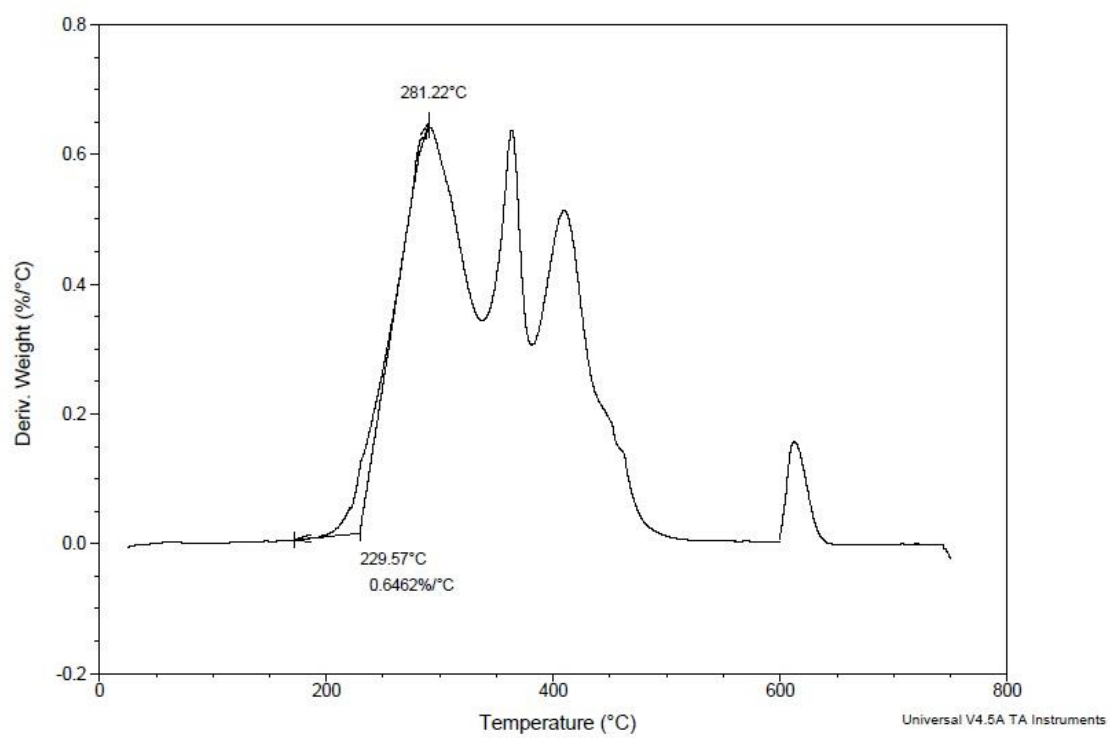


Fig. F.2 Curva DTGA.

G. PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (25/75)

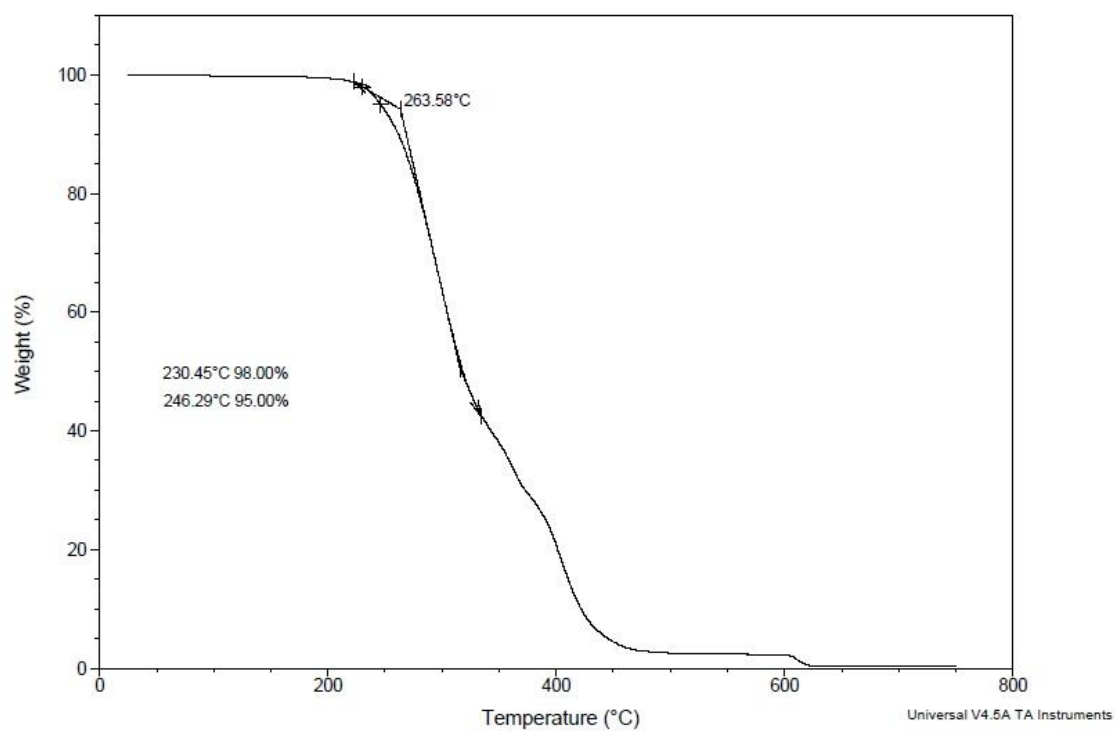


Fig. G.1 Curva TGA.

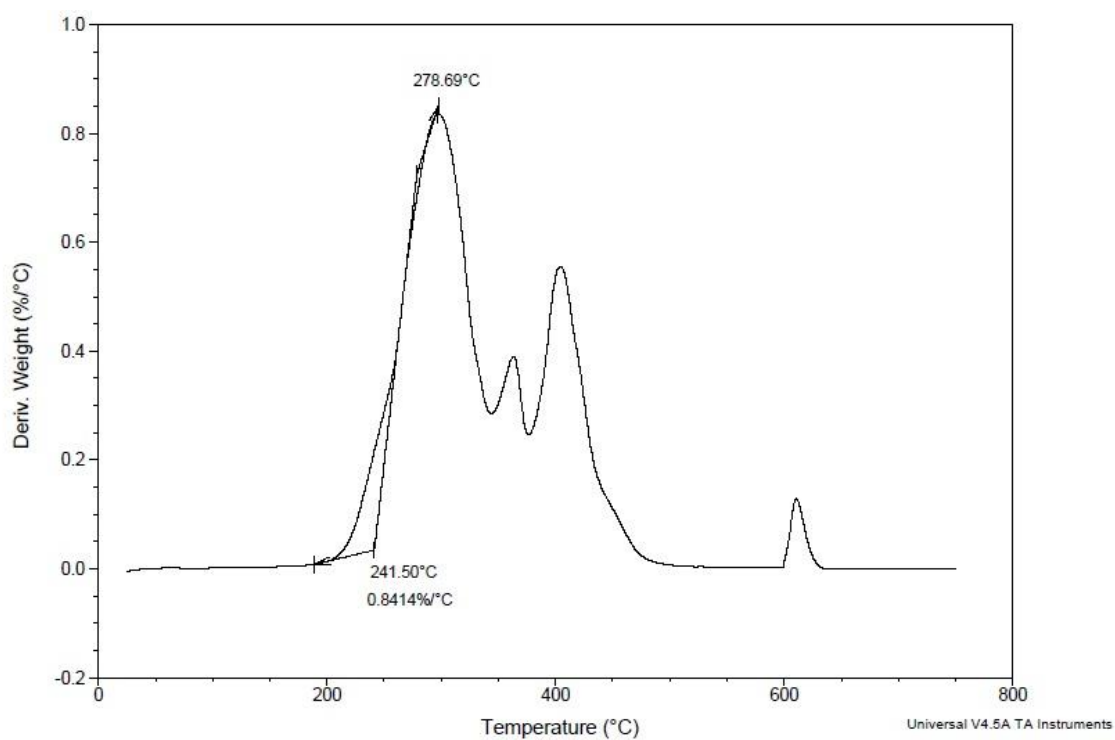


Fig. G.2 Curva DTGA.

H. PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (75/25)

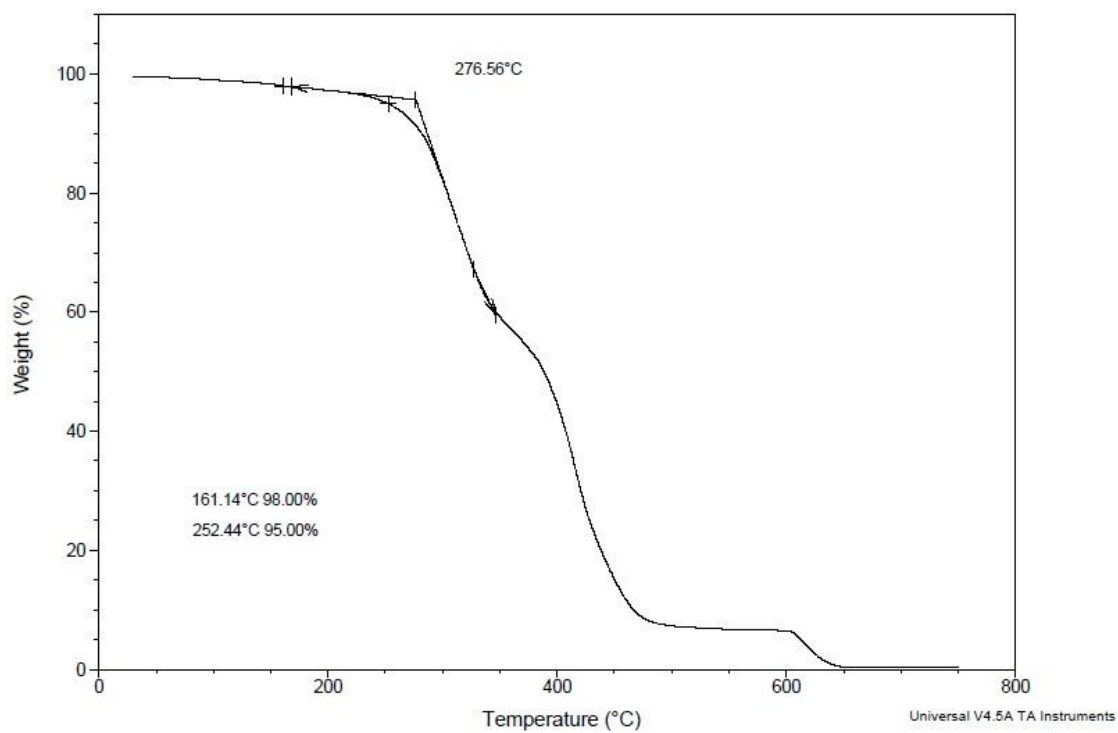


Fig. H.1 Curva TGA.

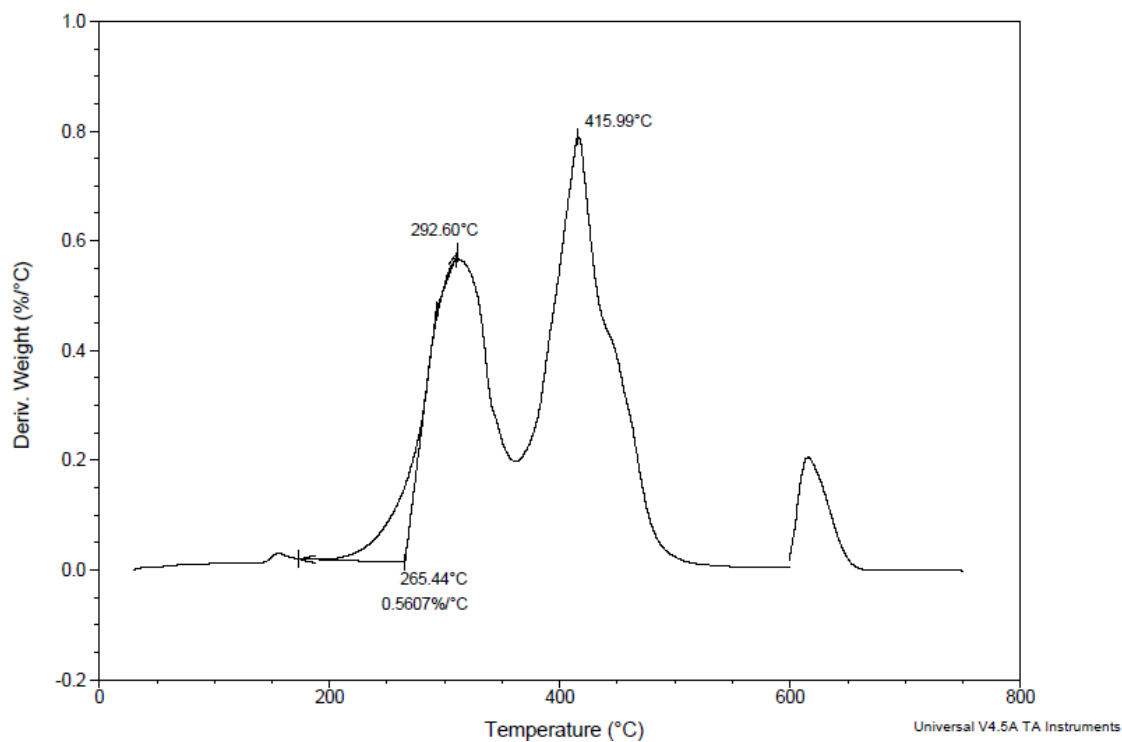


Fig. H.2 Curva DTGA.



I. PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (50/50)

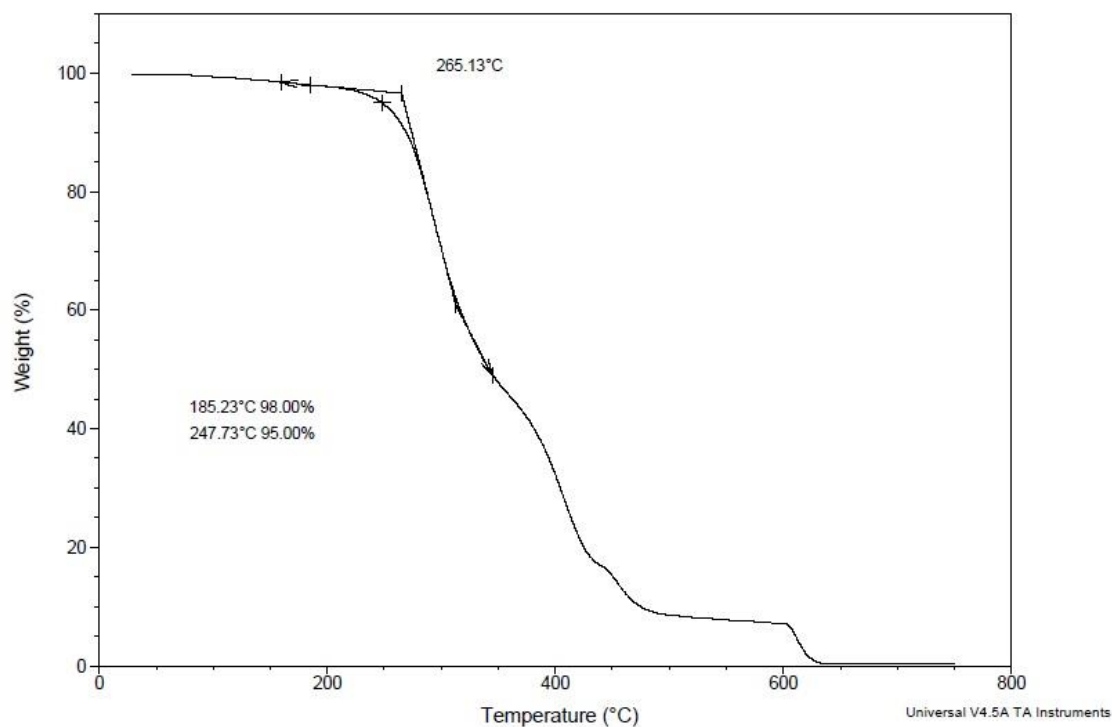


Fig. I.1 Curva TGA.

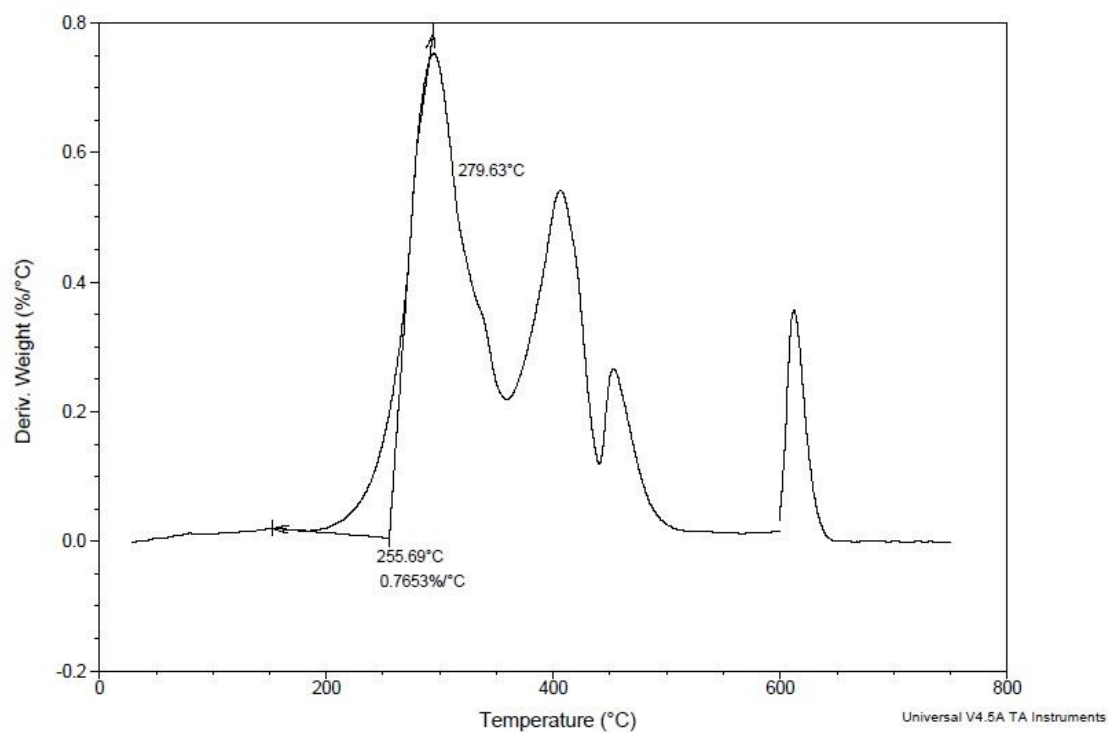


Fig I.2 Curva DTGA.

J. PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (25/75)

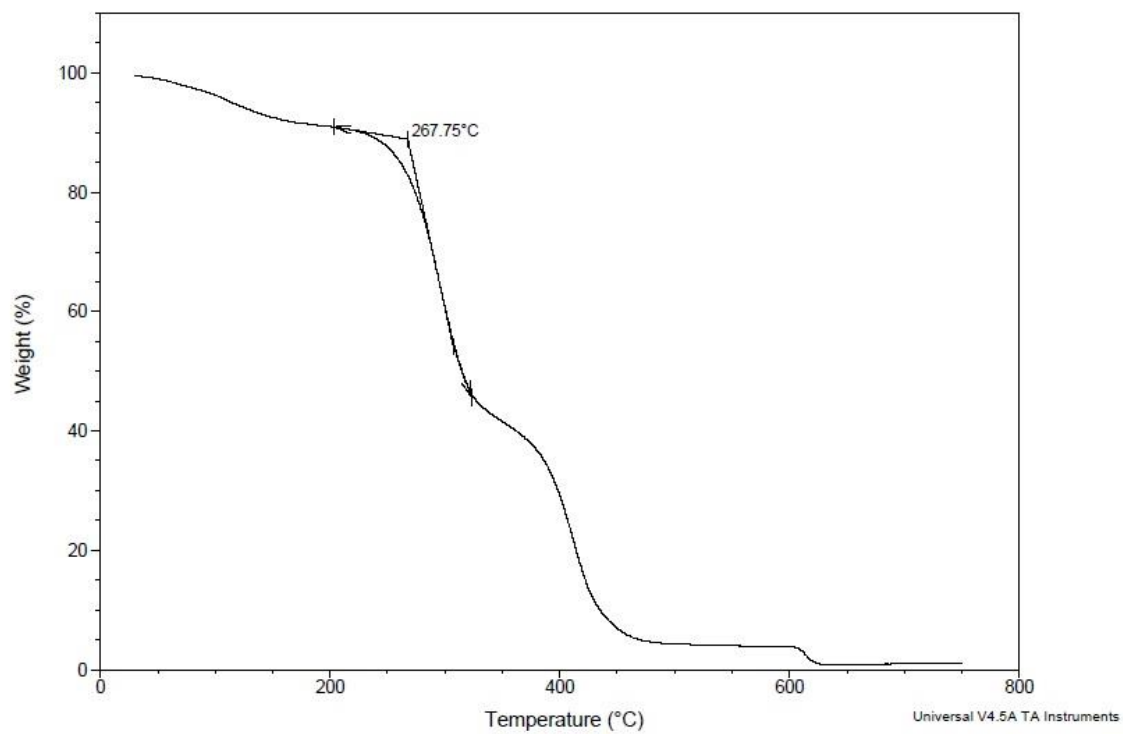


Fig. J.1 Curva TGA.

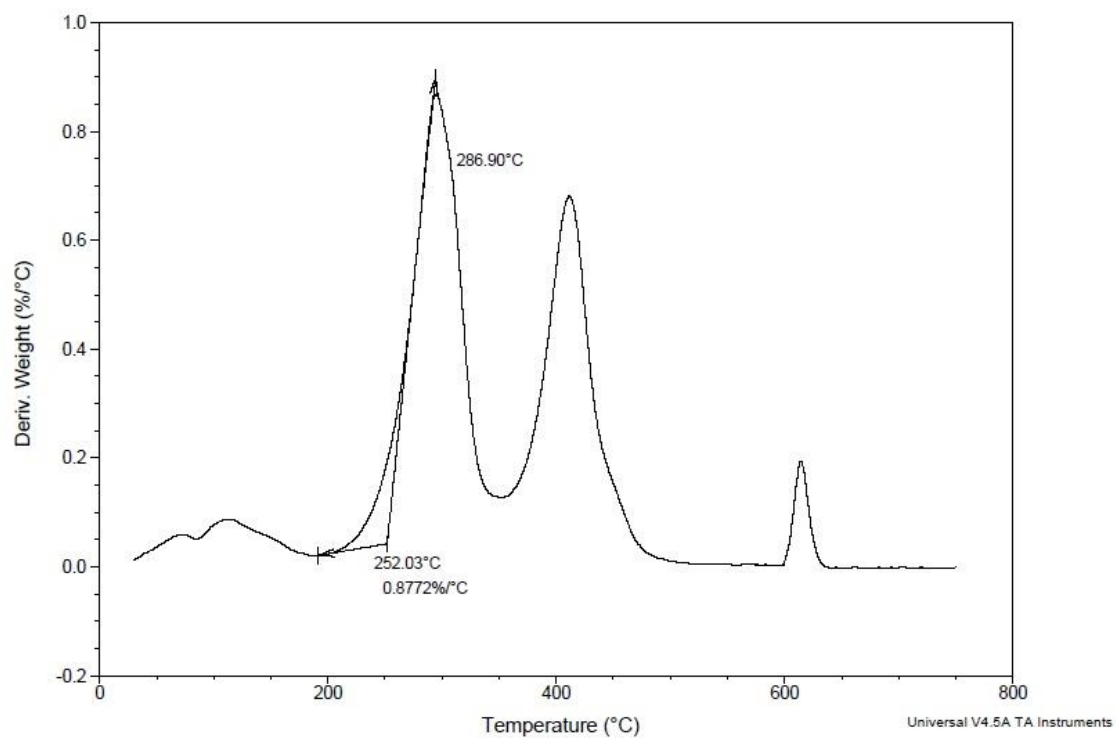
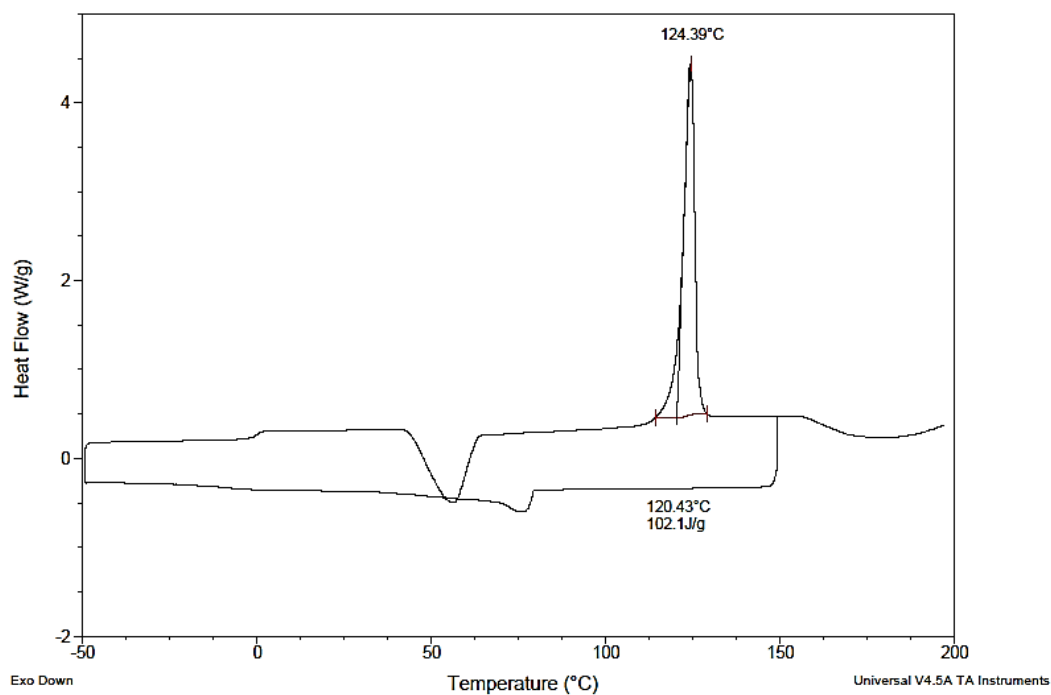


Fig. J.2 Curva DTGA.

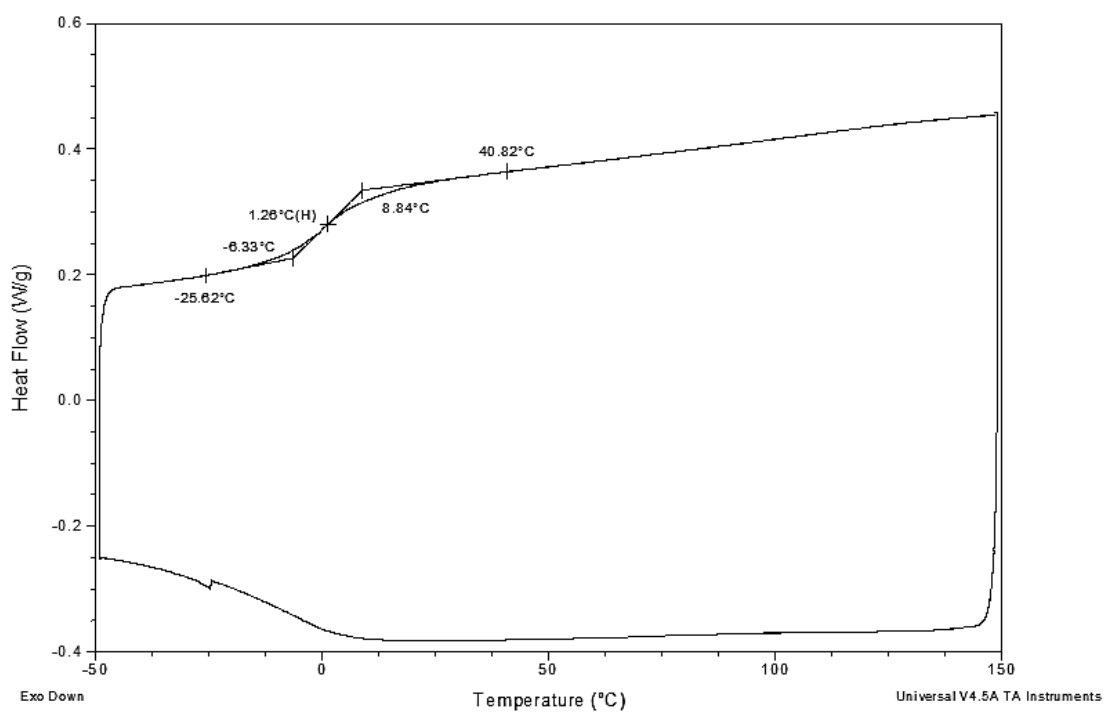
#### 4. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

##### A. Monómero DAP:



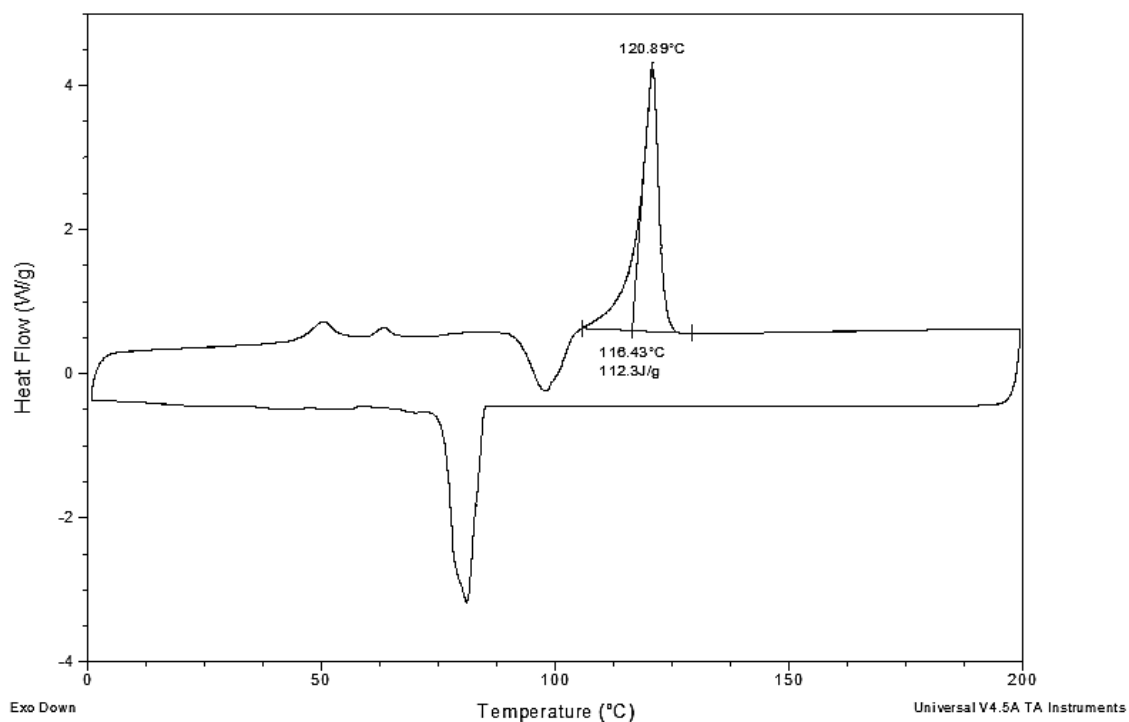
**Fig.A** Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.

##### B. Polímero PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP:



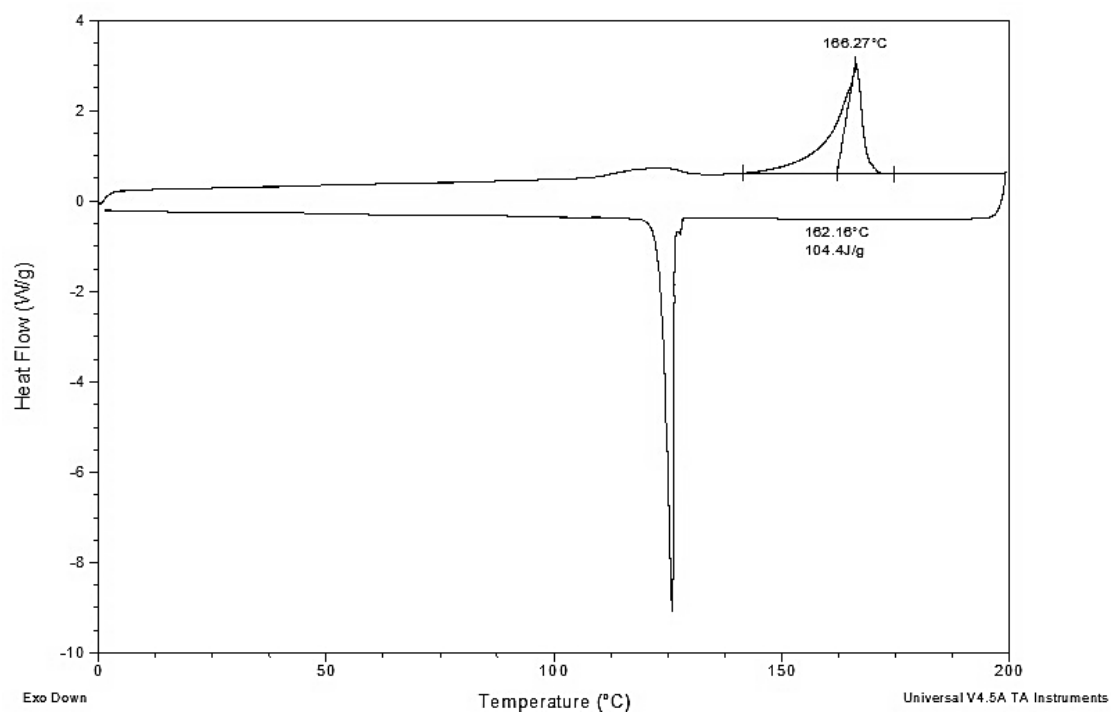
**Fig.B** Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.

C. Tc<sub>20</sub>



**Fig.C Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.**

D. tAZO-i



**Fig.D Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.**

E. PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (75/25)

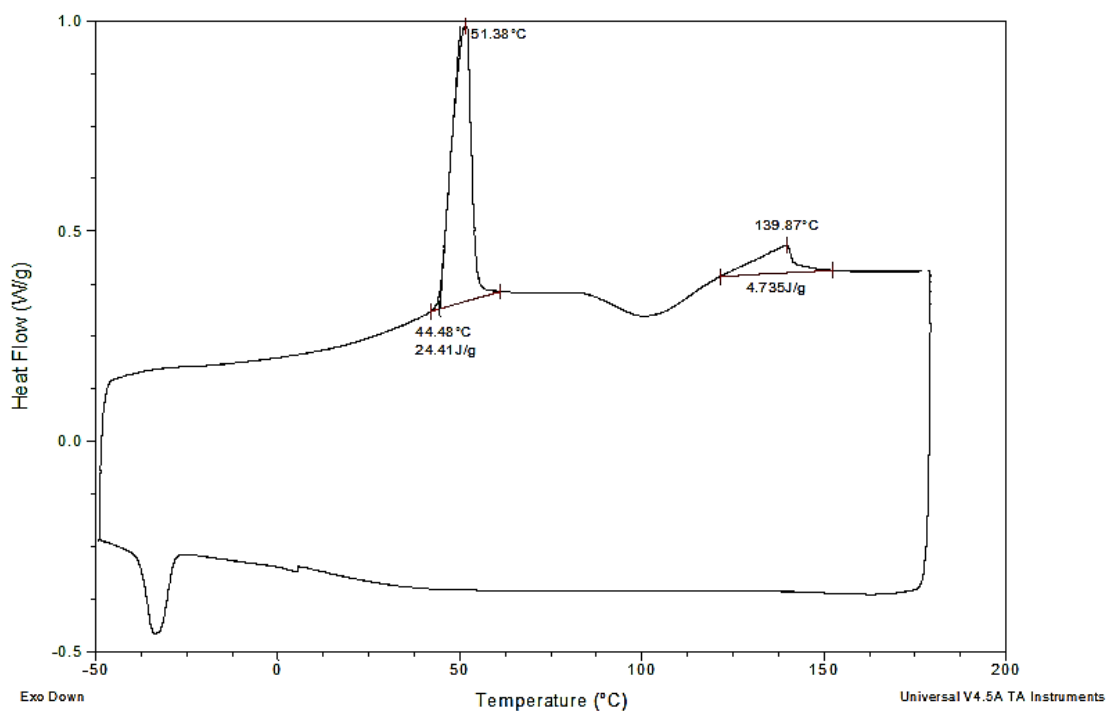


Fig.E Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.

F. PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (50/50)

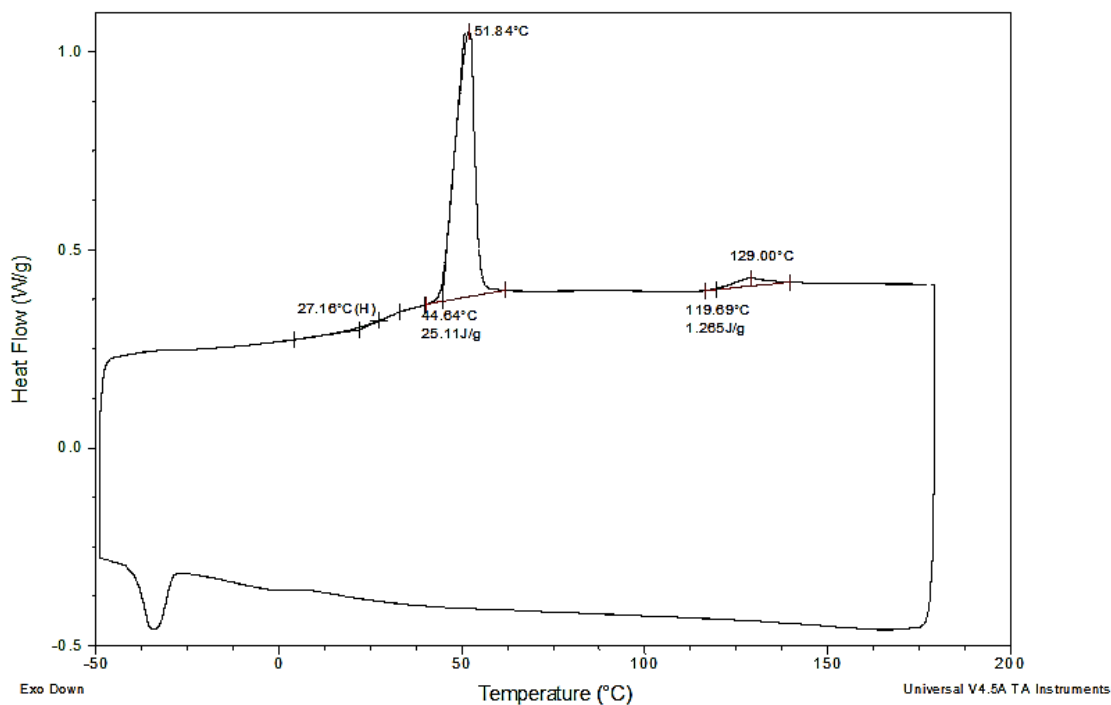
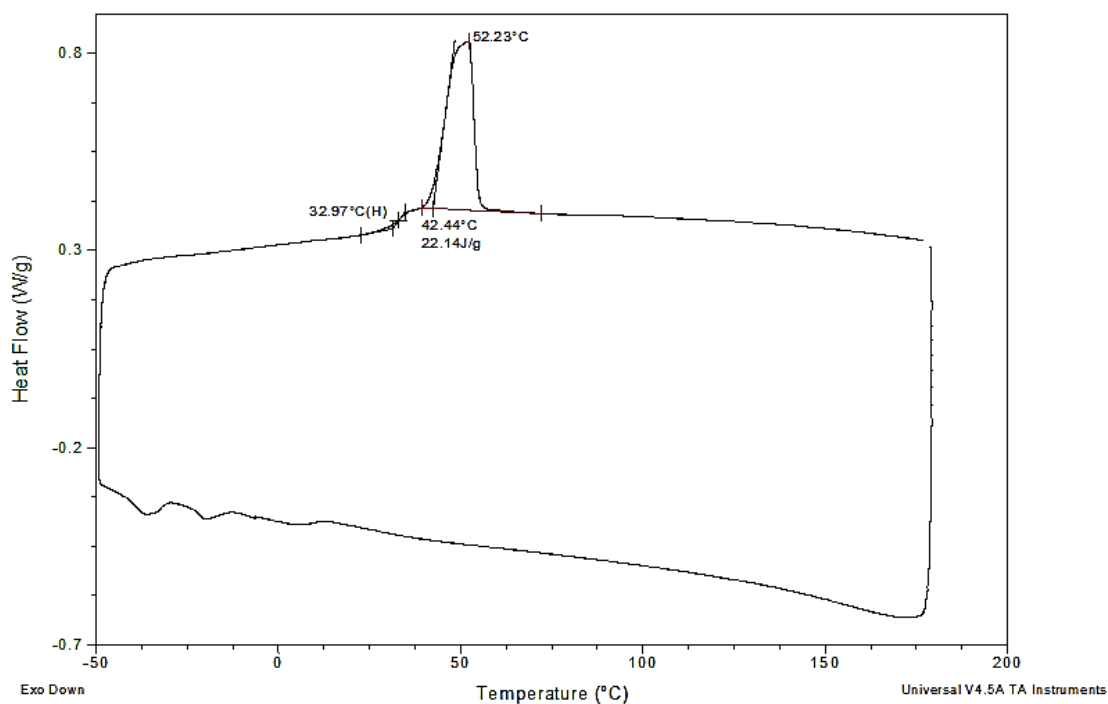


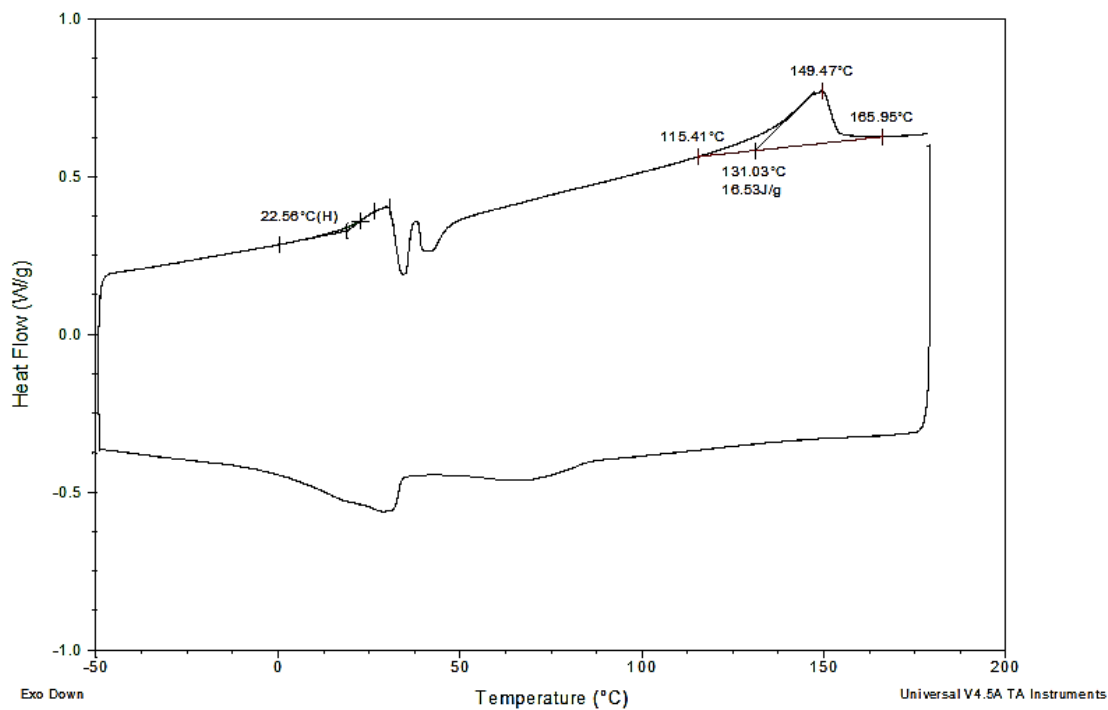
Fig.F Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.

**G. PEG<sub>10000</sub>-b-PDAP•tAZO-i/tC<sub>20</sub> (25/75)**



**Fig.G Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.**

**H. PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP•tAZO-i/tC<sub>20</sub> (75/25)**



**Fig.H Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.**

I. PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (50/50)

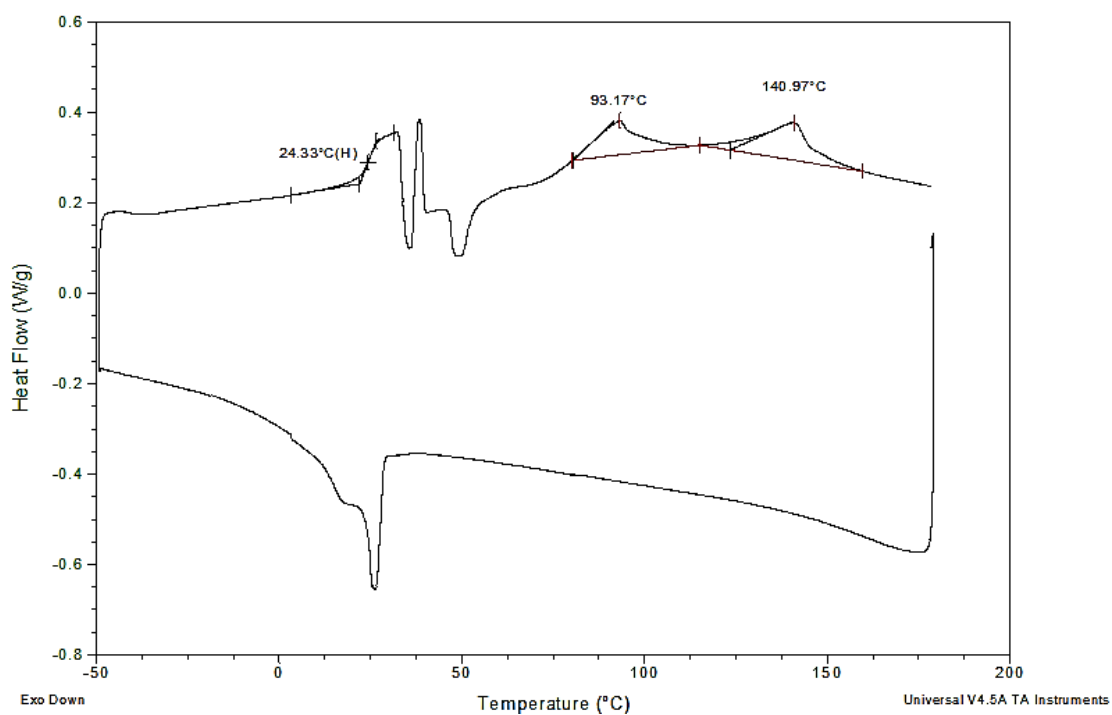


Fig.I Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.

J. PEG<sub>2000</sub>-b-PDAP-tAZO-i/tC<sub>20</sub> (25/75)

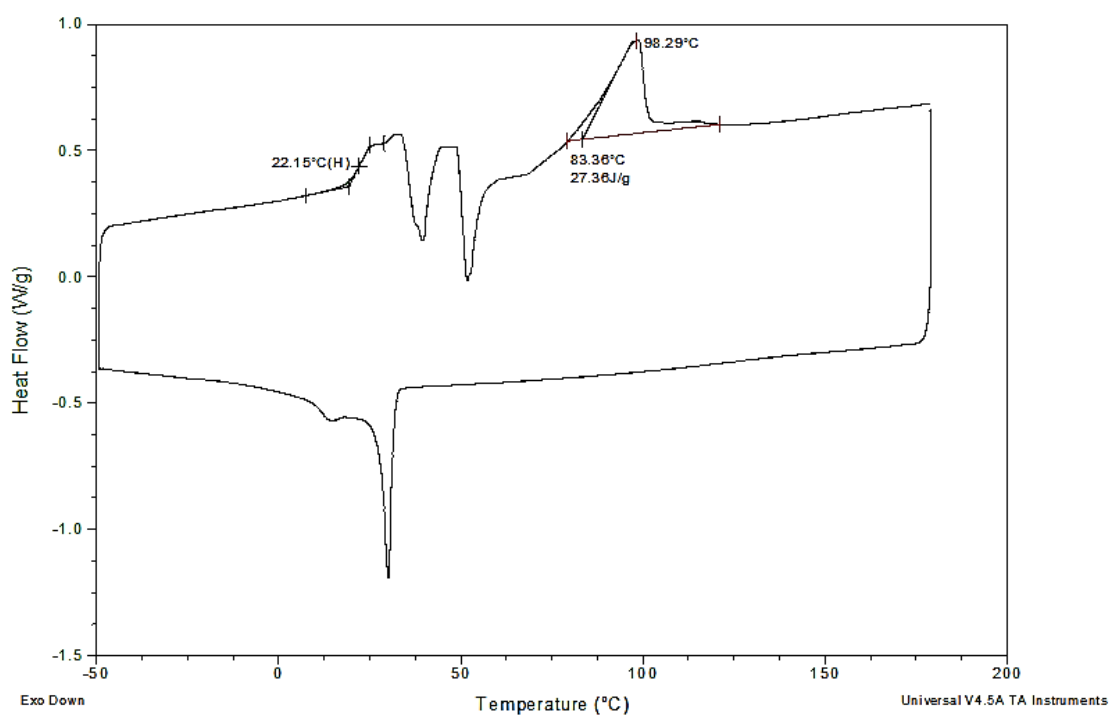


Fig.J Primera curva enfriamiento y segunda curva de calentamiento del DSC.

## 5. MALDI-MS.

### A. PEG:

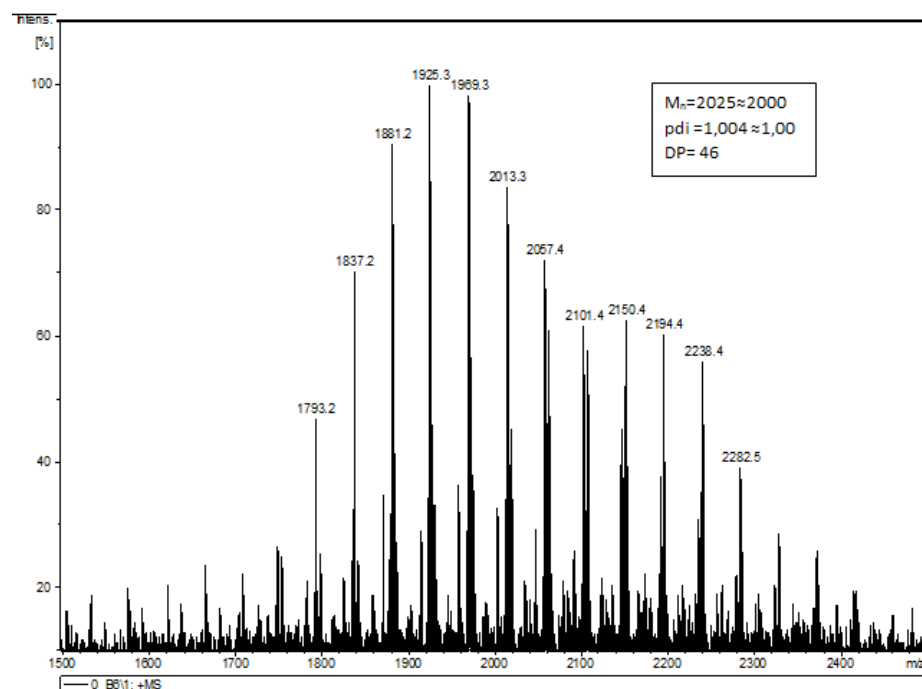


Fig. A. MALDI-TOF del bloque de PEG.

### B. tAZO-i

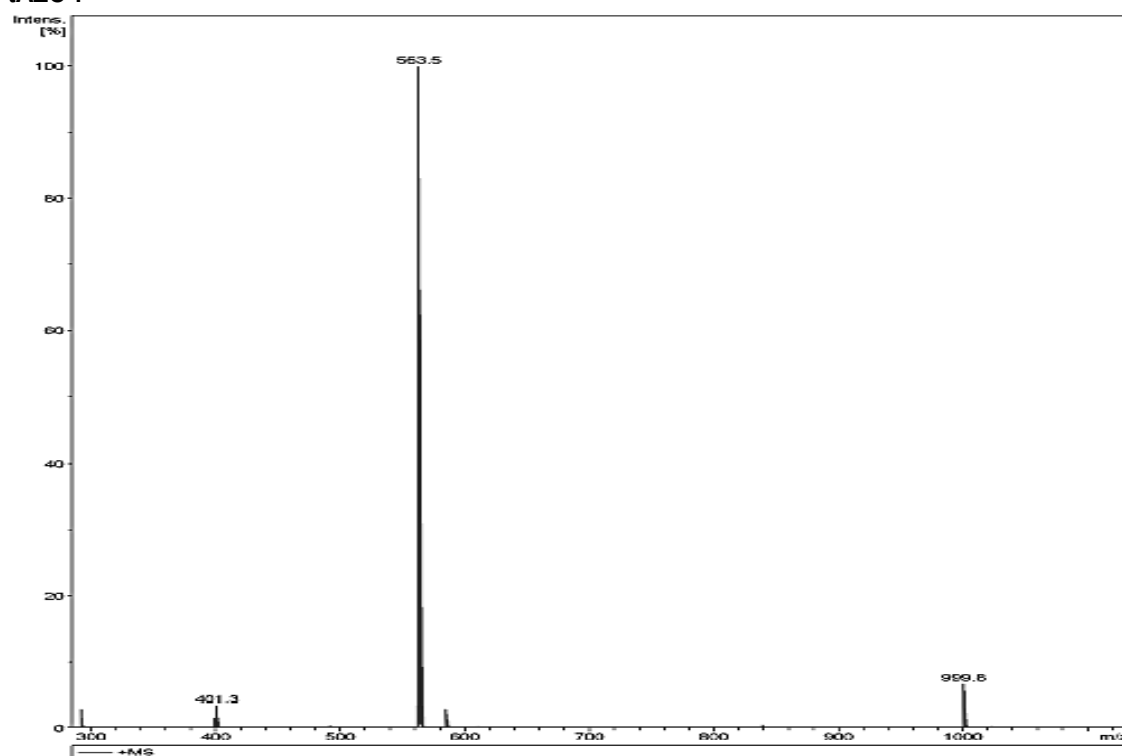
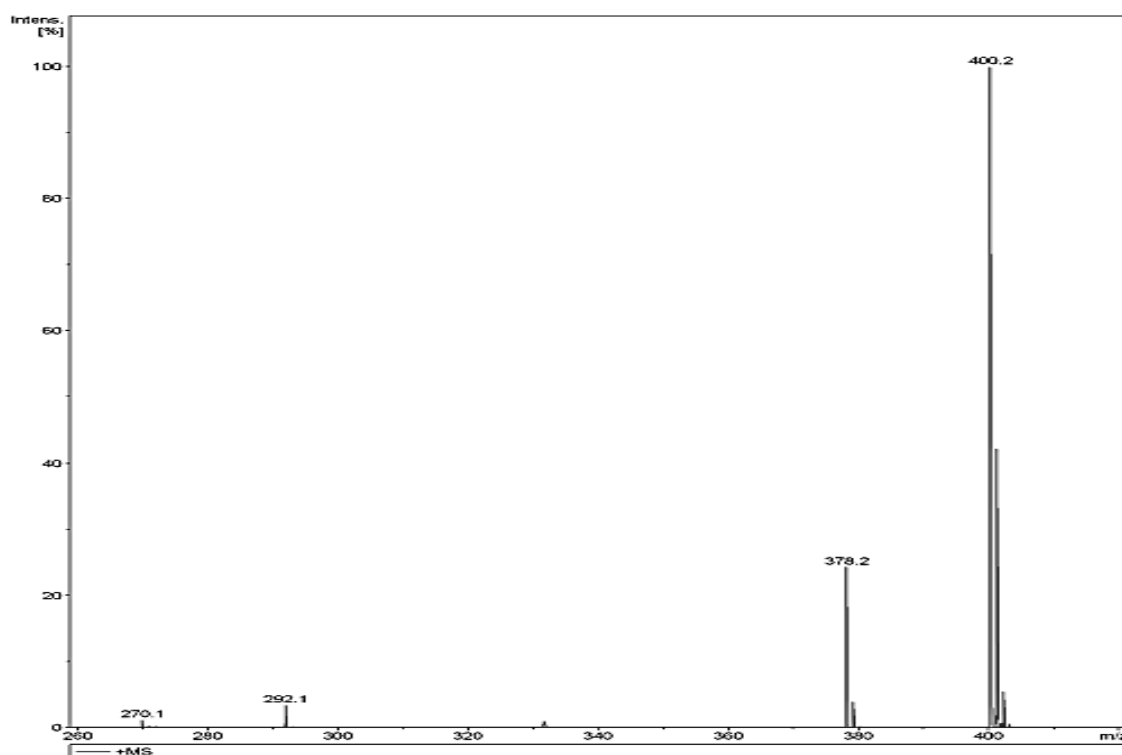


Fig. B. MALDI-TOF del tAZO-i.



### C. DAP



**Fig. C. MALDI-TOF del DAP.**

## 6. Técnicas e instrumentos.

- **Espectroscopía Infrarroja: FTIR**  
Pastillas de KBr o películas poliméricas depositadas sobre sustrato de KBr.  
-Nicolet Matson Avatar 360  
-Bruker Vertex 70
- **Resonancia Magnética Nuclear: RMN**  
Disolventes deuterados. 400MHz para  $^1\text{H}$  y 100MHz para  $^{13}\text{C}$ .  
-Bruker AV-400
- **Espectroscopía ultravioleta**  
-ATI Unicam, UV4-200
- **Cromatografía de Exclusión por Tamaños o Permeabilidad en Gel (GPC)**  
Eluyente THF, 1mL/min con columnas Waters Styragel® (7.8mm I.D. x 300mm) HR2 y HR4.  
-Waters 2695 Alliance  
-Detector de Light Scattering evaporative Waters 2420
- **Análisis Térmico: TGA-DTGA**  
Muestras en polvo (2-5mg). Velocidad de barrido 10°C/min desde 30 a 600°C en atmósfera inerte (nitrógeno) y desde 600°C hasta 750°C en atmósfera oxidante.  
-TA Inst. Q5000
- **Análisis Térmico: DSC**  
Muestras en polvo (2-5mg) selladas en cápsulas de aluminio. Velocidad de barrido habitual 10°C/min. La  $T_g$  ha sido calculada como el punto medio de altura del salto de capacidad calorífica. Los picos han sido calculados en el máximo de transición.  
-TA Ins. Q20 y Q2000 (DSC)
- **Microscopía Óptica de Luz Polarizada: MOP**  
-Microscopio: Olympus BH-2  
-Platina calefactora: Linkam THMS600  
-Cámara: Olympus DP-12
- **Microscopía de Transmisión Electrónica: TEM**  
-Fei Tecnai T20 operando a 200kV.

